This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

**Usage guidelines**

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

**About Google Book Search**

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

**Über dieses Buch**

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

**Nutzungsrichtlinien**

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

**Über Google Buchsuche**

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

P9213u

2044 106 409 840

P9213u

W. G. FARLOW.

# Untersuchungen

über die

# Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung

einiger

# Bacterien-Arten.

**Inaugural-Dissertation**

zur

Erlangung der philosophischen Doctorwürde

an der

**Universität Leipzig**

vorgelegt

von

**Adam Prażmowski.**

**Leipzig,**
Verlag von Hugo Voigt,
Buchhandlung für Landwirthschaft, Gartenbau und Forstwesen.
1880.

P9213u

Herrn

Hofrath Prof. Dr. **A. Schenk**

seinem hochverehrten Lehrer

in dankbarer Verehrung

gewidmet

vom

Verfasser.

# Einleitung. Untersuchungsmethoden.

Seit Anfang der sechziger Jahre hat sich auf dem Gebiete der Bacterienforschung eine überaus rege, fast rastlose Thätigkeit entwickelt, welche in kurzer Zeit eine umfangreiche und heutzutage kaum zu überblickende Literatur entstehen liess. Es waren damals namentlich die wichtigen auf dem Gebiete der contagiösen Krankheiten gemachten Entdeckungen, sowie auch die von Neuem aufgetauchte Frage der Heterogenesie oder Generatio spontanea, welche das Interesse für diese kleinsten Lebewesen in den weitesten Kreisen wachgerufen haben, und den ersten Anstoss zu den zahlreichen und mit jedem Jahr anwachsenden Untersuchungen gaben, durch die man eine Aufklärung sowohl über ihre Beziehungen zu den Epidemien, als auch über ihren Ursprung zu erlangen suchte. Noch mehr wurde dieses Interesse erhöht und neue Wege der Forschung eröffnet, als durch die ausgezeichneten Arbeiten von Pasteur neue, überraschende Thatsachen zu Tage gefördert wurden, welche es glauben liessen, dass die mannigfaltigen und bezüglich ihrer Aetiologie so dunklen Gährungs- und Zersetzungserscheinungen in einem nothwendigen, causalen Zusammenhang mit dem Leben und der Entwickelung dieser Lebewesen stehen müssen.

Indessen war die allgemein biologische Richtung, welche all' diese Forschungen verfolgten, Schuld daran, dass die rein naturgeschichtliche Seite der „Bacterienfrage" in den Hintergrund gedrängt wurde. Man hat es zwar gefühlt, dass die wichtigen allgemeinen Fragen, die sich an die Existenz der Bacterien knüpften, nicht ohne die richtige Erkenntniss der Natur dieser Wesen befriedigend gelöst werden können, glaubte jedoch vor den Schwie-

rigkeiten, die sich einer solchen Untersuchung entgegenstellten, zurückschrecken zu müssen. So geschah es, dass die von Hallier inaugurirte Metamorphosenlehre sich in kurzer Zeit der Naturgeschichte der Bacterien bemächtigte und dieselbe Jahre lang fast ausschliesslich beherrschte. Indem die Hallier'schen Lehren, die unglücklicherweise selbst bei namhaften Forschern günstige Aufnahme fanden, die Selbstständigkeit der Bacterien, als einer besonderen Gruppe von Organismen, läugneten, und in ihnen blos Abkömmlinge höher organisirter Pflanzenformen sahen, zu denen sie unter günstigen Umständen sich wieder hinaufschwingen konnten, so war bei dieser Anschauungsweise kein Platz für die Ueberzeugung, dass die Bacterien in ihrer Entwickelung bestimmten morphologischen Gesetzen unterliegen; deshalb wurde auch die Morphologie und mit ihr die Systematik der Bacterien gänzlich vernachlässigt. — Man war nur darauf bedacht, unter den höheren Pilzgattungen die „Bacterienbildner" aufzusuchen und hat auch dieselben bei gutem Willen und einiger Einbildungskraft stets gefunden. Je mehr aber höhere Pflanzenformen in den Entwickelungs- und Verwandtschaftskreis der Bacterien gezogen wurden und je energischer auf dem betretenen Irrwege gearbeitet wurde, desto höher stieg auch die Confusion und bald war es nicht mehr möglich, sich in der reichen Fülle von extravaganten Hypothesen und unzureichenden Beobachtungen zu orientiren und das Wahre von dem Phantastischen zu unterscheiden.

Eine erfolgreiche Wendung hat die Bacterienforschung erfahren, als Cohn im Jahre 1872 mit seinen „Untersuchungen über Bacterien" hervortrat. In dieser Arbeit hat sich Cohn nicht nur der schwierigen und mühevollen Aufgabe unterzogen, das von seinen Vorgängern angehäufte Material kritisch zu sichten und zu ordnen, er hat es auch durch seine eigenen, werthvollen Beobachtungen bereichert und zugleich neue, feste Grundlagen für die künftige Erforschung der Bacterien geschaffen. Indem die Ideen Cohn's von den meisten Bacteriologen adoptirt wurden, ist auch die Bacterienforschung in ein minder bewegtes, aber sicheres Fahrwasser getreten. In den wenigen darauf folgenden Jahren sind auch in der That höchst wichtige Thatsachen an's Licht gebracht worden. So ist es Cohn selbst gelungen, die Reproduction des Bacillus subtilis durch Sporen nachzuweisen und zugleich die Ursache der ausserordentlichen Widerstandsfähigkeit der Bacterien gegen hohe Temperaturgrade in einfacher Weise zu erklären; diesen Entdeckungen folgten bald andere, unter denen namentlich diejenigen von Koch und Brefeld hervorzuheben sind, die, wie sie einerseits die pflanzliche Natur

der Bacterien ausser Zweifel stellten, so auch andererseits die Ueberzeugung immer mehr begünstigten, dass die Bacterien eine in sich selbst abgeschlossene Gruppe von unter einander verschiedenen Organismen bilden müssen. —

* * *

Die vorliegenden Untersuchungen, die sich zur Aufgabe stellten, die morphologischen und entwickelungsgeschichtlichen Verhältnisse bei einer beschränkten Anzahl von Bacterien-Arten zu erforschen, wobei auch die Biologie und Physiologie der betreffenden Arten nach Möglichkeit berücksichtigt wurde, habe ich schon früher auszugsweise im letzten Jahrgange der Bot. Ztg. veröffentlicht.[1] Sie wurden in der Folge noch einige Zeit fortgeführt, mussten aber später, Krankheitshalber, unterbrochen werden. Wenn sie auch dadurch die gewünschte Abrundung und Vollendung nicht erlangt haben, so hoffe ich doch, dass sie Einiges zur Klärung der einschlägigen Fragen beitragen mögen. —

Was zuerst die Methoden anlangt, deren ich mich bei diesen Untersuchungen bedient habe, so werden dieselben bei der Schilderung der betreffenden Versuche speziell angegeben werden. Hier mag nur ganz Allgemeines über die Zusammensetzung der angewendeten Nährmedien, die Behandlung der Bacterienculturen sowie die beobachteten Vorsichtsmassregeln, Erwähnung finden.

Zu meinen Bacterienculturen habe ich theils feste Substrate, wie Stärke, Stücke von gekochtem Kartoffeln, von gekochtem Hühnereiweiss, Samen von Lupinen, der Sonnenrose etc., theils Nährlösungen verwendet; erstere wurden mit einem entsprechenden Quantum aq. dest. versetzt; letztere, die ich kurz als Dextrin- und Zuckerlösungen bezeichnen will, hatten folgende procentische (auf 100 Th. aq. dest.) Zusammensetzung: 0,5 gr. saures, phosphorsaures Kali, 0,5 gr. schwefelsaure Magnesia, 0,5 kohlensaures Ammoniak, 0,05 Chlorcalcium und 1 gr. von chemisch reinem Dextrin oder Rohrzucker. Diese Nährlösungen wurden in grösseren Quantitäten präparirt und zur Winterszeit in verkorkten Flaschen in einem kalten Zimmer in Schnee auf-

[1] Prażmowski. Zur Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterien-Arten. Vorläuf. Mitth. Bot. Ztg. 1877.

bewahrt, um sie vor spontanen Bacterienvegetationen, für welche sie einen sehr günstigen Nährboden bildeten, zu schützen. Als aber mit dem Eintritt der warmen Witterung es nicht mehr möglich war, dieselben bacterienfrei zu halten, habe ich mir eine Lösung verschafft, die blos die mineralischen Salze enthielt und der unmittelbar vor jedem Einzelversuche Dextrin oder Rohrzucker in entsprechenden Mengen zugesetzt wurden. Zu Anfang meiner Untersuchungen habe ich auch eine entsprechend zusammengesetzte Inulinlösung und die normale Bacteriennährflüssigkeit von Cohn angewendet, indessen dieselben bald verworfen, da sie sich für das Gedeihen der von mir untersuchten Arten als ungünstig erwiesen.[1]

Die Culturversuche wurden theils in gewöhnlichen Reagenscylindern mit Watteverschluss, theils in zugeschmolzenen Glascylindern und wo es sich um spezielle Zwecke, beispielsweise um Bestimmung der bei Gährungen entweichenden Gase handelte, auch in grösseren entsprechend eingerichteten Glaskolben angestellt. Sämmtliche Culturen wurden nach ihrer Herstellung in einen Wärmekasten gestellt, dessen Temperatur möglichst constant auf 30° bis 35° C. erhalten wurde. — Um Fehlerquellen möglichst zu vermeiden, namentlich aber meine Culturen vor Eindringen fremder Keime zu schützen, habe ich zur Inficirung derselben nur Sporen verwendet, wonach sie je nach Bedarf kürzere oder längere Zeit in einem Siedbade aufgekocht wurden. Reines Sporenmaterial habe ich durch eine Anzahl Vorversuche und successiver Culturen gewonnen. Dass bei der Inficirung, sowie auch bei Entnahme von Proben zur mikroskopischen Untersuchung alle möglichen Vorsichtsmassregeln beobachtet, namentlich aber die dabei benutzten Glasstäbe, Pipetten etc. vorher durch Erhitzen über einer Spiritusflamme gereinigt wurden, glaube ich nicht besonders versichern zu müssen.

Indem ich zur Schilderung der Ergebnisse meiner Untersuchungen übergehe, theile ich meinen Gegenstand in zwei Abschnitte, von denen im ersten die von mir untersuchten Arten speziell beschrieben werden, während im zweiten, Fragen von mehr allgemeiner Bedeutung zur Erörterung gelangen werden. —

---

[1] Sämmtliche Nährlösungen wurden in der chemischen Abtheilung des Leipziger botanischen Laboratoriums von Dr. Degener präparirt, wofür ich diesem Herrn meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

# A. Spezielles.

## Gattung **Bacillus** Cohn.

1) B. subtilis Cohn (Fig. 2—4 Taf. I.) ist als Hauptrepräsentant dieser Gattung zu betrachten. Seine Entwickelungsgeschichte wurde zuerst von Cohn[1] und Brefeld[2] erschlossen. Auch van Tieghem[3] hat in einer Arbeit über den sogenannten Amylobacter eine Entwickelungsgeschichte dieses Spaltpilzes zu geben versucht, indessen habe ich allen Grund zu glauben, dass seine Bacterie etwas ganz Anderes, als B. subtilis war. —

Da wir in den Arbeiten von Cohn und Brefeld eine ziemlich detailirte Darlegung der Entwickelungsvorgänge von B. subtilis haben, so will ich im Folgenden aus der Lebensgeschichte dieses Spaltpilzes nur solche Momente hervorheben, die bis jetzt entweder unberücksichtigt gelassen oder ungenügend gewürdigt worden sind oder auch für einen Vergleich mit der nächstfolgenden Gattung von Wichtigkeit sind. —

Bevor ich aber auf dieses Thema zu sprechen komme, scheint es mir nothwendig zu sein, einige Worte über die Begrenzung dieser Art zu verlieren. Cohn hat, wie dies aus verschiedenen Stellen seiner Arbeiten zu entnehmen ist, unter dem Speziesnamen B. subtilis alle diejenigen Formen zusammengefasst, die in lange und sehr dünne Fäden auswachsen können; eine Ausnahme davon bildet nur diejenige Bacterie, die sich im Blut und in der Leber der am Milzbrand erkrankten Thiere vorfindet und die mit

---

[1] Cohn. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. II., Heft 2. 1876.

[2] Brefeld. Untersuchungen über die Spaltpilze. Aus den Sitzungsbericht der Gesellsch. naturforsch. Freunde zu Berlin. Bot. Ztg. 1878.

[3] Van Tieghem. Sur le Bacillus Amylobacter etc. Bull. de la société botanique de France. T. XXIV. 1877.

dem besonderen Namen B. Anthracis belegt wurde. Da nun aber, wie sich aus dem weiteren Verlauf dieser Arbeit ergeben wird, auch andere, gewiss distincte Arten die Fähigkeit besitzen, in lange, dünne und von denen des B. subtilis gar nicht oder nur schwer unterscheidbare Fäden auszuwachsen, so ist daraus ersichtlich, dass die Grenzen dieser letzteren Art zu weit gegriffen sind. Um Missverständnissen vorzubeugen, bezeichne ich im Folgenden, wie es auch die Billigkeit fordert, mit dem Namen B. subtilis nur diejenige Art, welche Cohn in gekochten Heuaufgüssen rein cultivirt und deren Entwickelungsgeschichte er zur selben Zeit erforscht hat.

B. subtilis ist sehr leicht rein zu cultiviren, denn seine Sporen können ohne irgend welchen Schaden Temperaturen aushalten, die, soweit wir dies bis jetzt wissen, für alle übrigen Bacterien tödtlich sind. Die Sporen kann man sich entweder dadurch verschaffen, dass man eine Handvoll Heu im Wasser abwäscht und mit einer Portion des Waschwassers das zu seiner Cultur bestimmte Nährsubstrat inficirt, oder dass man dieselben aus irgend einer Infusion, wo sich B. subtilis spontan eingefunden hat, entnimmt. Ein viertelstündiges Aufkochen reicht in der Regel aus, um eine Reincultur dieses Spaltpilzes zu erlangen.

Die Entwickelungsgeschichte von B. subtilis habe ich sowohl direct unter der feuchten Kammer, als auch in Culturen, die in Reagenscylindern mit Watteverschluss angesetzt waren, verfolgt.

Als feuchte Kammern benutzte ich nach mehreren fehlgeschlagenen Versuchen mit anderen bekannten Systemen von feuchten Kammern[1] Objectgläser, deren Einrichtung Fig. 1, Taf. I. veranschaulichen soll. Sie sind $2^1/_2$—3 mm. dick und tragen an ihrer oberen mattgeschliffenen Seite eine ringförmige Vertiefung (b) von $1^1/_2$ mm. Tiefe. Die von diesem Ring eingeschlossene kreisförmige Fläche (a) ist sehr sorgfältig glattgeschliffen und ihr Niveau liegt etwas tiefer, als dasjenige ausserhalb des Ringes, aber nur insoweit, dass eine nach Auflegung des Deckglases zwischen dieser Fläche und dem Deckglase eingeschlossene Flüssigkeitsschicht in ihrer ganzen Höhe noch den stärksten Systemen zugänglich ist. Seitlich an der ringförmigen Vertie-

[1] Die nach der Vorschrift von Recklingshausen von dem kürzlich verstorbenen Mechaniker Geissler geblasenen Glaskammern sind für diese Untersuchnngen nicht zu gebrauchen, da sie wegen der Dicke ihrer Wandungen für stärkere Systeme unzugänglich sind und wegen der Unebenheiten ihrer Fläche auch bei Anwendung schwächerer Systeme sehr ungünstige optische Verhältnisse darbieten. Ebenso erwiesen sich die von Koch bei seinen Untersuchungen über B. Anthracis benutzten hohlgeschliffenen Objectgläser als wenig brauchbar, da dieselben eine Luftzufuhr von Aussen während des Versuchs nicht gestatten.

fung ist eine kleine Rinne (r) angebracht, deren Bestimmung weiter unten erklärt werden soll.

Um diese Objectgläser für meinen Zweck benutzen zu können, habe ich folgendes Verfahren eingeschlagen. Es wurde in einen Reagenscylinder eine kleine Quantität (1 cbcm. etwa) Dextrinlösung gegossen und dieselbe durch längeres Aufkochen in einem Wasserbade sterilisirt. Nachdem dies geschehen, wurde die Dextrinlösung mit einem Tropfen aus einer ganz reinen Bacilluscultur, die reichlich Sporen gebildet hat, beschickt und nach starker Durchschüttelung eine Probe davon unter dem Mikroskop untersucht. Nachdem ich mich überzeugt habe, dass die Inficirung im richtigen Verhältniss stattgefunden hat, so etwa, dass 5—10 Sporen auf ein Gesichtsfeld zu liegen kamen, brachte ich den Cylinder mit der Dextrinlösung wieder auf 5 Minuten in das Wasserbad, um die möglicherweise bei der Inficirung eingedrungenen fremden Keime zu vernichten. Alsdann wurde ein Tropfen von noch heisser Drextrinlösung auf die kreisförmige Fläche des inzwischen sorgfältig gereinigten Objectglases gebracht und nach Bedeckung mit dem Deckglase die Ränder des letzteren mit einem Wachsüberzug bis auf die kleine, seitliche Rinne verkittet. Der Wachsverschluss hatte den Zweck die eingeschlossene Flüssigkeit vor zu rascher Verdunstung zu schützen, während durch die offen gebliebene Rinne der Luftzutritt in die feuchte Kammer gesichert war.

Das so hergestellte Präparat wurde auf einen heizbaren Schultze'schen Objecttisch gebracht, welcher mit Hülfe zweier Gasbrenner constant auf einer Objecttemperatur von 30—35° C. erhalten wurde. An demselben Mikroskop, an dem der heizbare Objecttisch angebracht war, befand sich auch der Abbe'sche Beleuchtungsapparat, mit welchem ich selbst an trüben Tagen und bei Anwendung der stärksten Systeme noch eine hinreichende Beleuchtung des Gesichtsfeldes erzielen konnte.

Da der Keimungsprozess der Sporen von B. subtilis bis jetzt nur excerptiv von Brefeld und auch meinerseits beschrieben wurde, und die angekündigte ausführliche Mittheilung von Seiten Brefeld's bis zur Stunde noch nicht erfolgt ist, so wird es vielleicht manchem Leser willkommen sein, wenn ich an dieser Stelle Ausführlicheres darüber berichte.

Die Sporen von B. subtilis sind von länglicher, ovoider Gestalt und zeigen einen stark lichtbrechenden Inhalt, der von scharfen, dunklen Contouren umgeben ist; (Fig. 2. A. a., B. a. und Fig. 4 b.) auf diese folgt nach aussen ein heller Lichthof, der, wie ich gleich hier erwähnen will, sich auch bei anderen Bacteriensporen wiederfindet.[1]

[1] Der Lichthof der Sporen wurde in der Zeichnung nicht aufgenommen.

Die ersten sichtbaren Veränderungen bemerkt man an den Sporen erst nach Verlauf von 1—1½ Stunden; die Sporen fangen an, ihren Lichtglanz zu verlieren und schwellen dabei etwas an. Nach einer weiteren halben bis ganzen Stunde sind sie alle blass und um dass Doppelte ihres Anfangsvolumens angeschwollen. Man vermisst jetzt an ihnen den hellen Hof und die dunklen Contouren, dafür aber kommt an ihren beiden Polen ein dunkler Schatten zum Vorschein, halbmondförmig von Gestalt und nach innen vorspringend. (Fig. 2. A. b. c., B. b.) Dieses Aussehen behalten die Sporen bis zu ihrer Auskeimung, welche 1—2 Stunden später erfolgt. Je mehr diese herannaht, desto schwieriger wird die Beobachtung; denn die Sporen gerathen jetzt in eine zitternde fast tanzende Bewegung, die nicht bloss molekular sein muss, weil sie zuweilen ziemlich bedeutende Ortsveränderungen verursacht. Nur wenn die Spore an irgend einen Körper z. B. ein Schleimklümpchen festgeklebt ist, lassen sich die nun folgenden Erscheinungen mit einiger Sicherheit verfolgen. Zunächst erscheint seitlich an der Spore eine schwache Ausbauschung (Fig. 2. A. d. B. c.) und bald darauf sieht man an dieser Stelle eine kleine Papille, den Keimschlauch, hervortreten (A e. B d); gleichzeitig erfährt die entgegengesetzte Seite der Spore eine Einbiegung nach innen, wahrscheinlich in Folge des Druckes, welche das nach Befreiung strebende Stäbchen auf die Sporenhaut ausübt. — Nach einigen Anstrengungen gelingt es schliesslich dem Stäbchen nach aussen herauszuschlüpfen; doch bleibt dasselbe vorläufig ruhig neben der entleerten Sporenhaut liegen (Fig. 2. A. f.). — Der ganze Vorgang von dem Erscheinen des Keimschlauches bis zum Herausschlüpfen des Stäbchens dauert 10—15 Minut.

Die eben beschriebene Art der Auskeimung ist jedoch verhältnissmässig selten. Viel häufiger erfolgt sie in der Weise, dass das Stäbchen nach seinem Hervorbrechen an seinem vorderen Ende durch Wachsthum sich verlängert, während sein hinteres Ende erst nach und nach aus der Sporenhaut sich zurückzieht (Fig. 2. B d—f.) In diesem Falle sieht man nach einiger Zeit die Sporenhaut gleich einem Knopf an einem langen und aus mehreren Gliedern bestehenden Stock querüber das eine Ende einer längeren Stäbchenkette begrenzen.

Die Zeit, welche die Sporen unter den gegebenen Bedingungen zur Auskeimung nöthig haben, würde sich nach dem vorhin Gesagten auf 3 bis 4½ Stunden belaufen. Aber nicht alle Sporen kommen Gleichzeitig zur Auskeimung, vielmehr zeigen sie in dieser Hinsicht bedeutende Divergenzen. Der extremste Fall, den ich beobachtet habe, war der, bei welchem ein um 10 Uhr angestelltes Präparat um 1 Uhr Nachmittag die ersten gekeimten Sporen entwickelte, während die letzten „Nachzügler" erst gegen 6 Uhr zur Keimung gelangten.

Ueber die Art und Weise des Zustandekommens der Oeffnung, durch welche der Keimschlauch nach Aussen hervordringt, konnte ich ebensowenig wie Brefeld zu irgend welchem befriedigenden Anfschluss gelangen. Ist die Oeffnung durch Resorption eines Stückchens der Sporenhaut oder durch Platzen der letzteren entstanden? Es ist schwer einen Beweis für die eine oder die andere Möglichkeit anzuführen; denn weder die directe Beobachtung der Keimung liefert uns einen solchen, da das Hervorbrechen des Keimschlauches sich in wenigen, flüchtigen Augenblicken vollzieht und die Kleinheit des Objectes verhindert, diesem Vorgang in allen seinen Einzelheiten mit Genauigkeit zu folgen, noch gibt uns die Beschaffenheit der entleerten Sporenhaut ein Mittel in die Hand, um mit Hülfe dessen einen sicheren Rückschluss auf das Wie dieses Vorgangs ziehen zu dürfen. Die Sporenhaut ist jetzt nämlich zu ihrem früheren Volumen zusammengeschrumpft und ausser der Verdickung an ihren beiden Polen lassen sich selbst mit den stärksten Vergrösserungen (Zeiss, Immersion L.) keine weiteren Details ihrer Structur wahrnehmen.

Die ausgekeimten Stäbchen bleiben Anfangs ziemlich ruhig an dem Orte liegen, an welchem sie gekeimt waren; sie schwärmen erst später davon, nachdem sie einige Zeit fortgewachsen und eine Anzahl Tochterstäbchen abgegliedert haben. Sie sind aber in dieser Zeit keineswegs vollständig bewegungslos, vielmehr führen sie schwache, zitternde oder wackelnde Bewegungen aus, wodurch sie fortwährend ihre Lage ändern. Man bemerkt hierbei, dass die Sporenhaut an allen diesen Bewegungen Antheil nimmt selbst dann, wenn dieselbe nicht am Ende des Stäbchens, sondern zur Seite desselben liegt und man darf daraus schliessen, dass die Membran des Stäbchens von schleimiger Beschaffenheit sein muss. Sobald die Bewegungen der Stäbchen kräftiger werden, wird auch die Sporenhaut abgestreift.

Der Uebergang des Stäbchens aus dem Ruhe- in den Schwärmerzustand ist ein allmäliger. Man sieht zuerst das eine Ende des Stäbchens in Schwingungen gerathen gleich einer an einem Ende festgeklemmten und in Bewegung gesetzter Feder; dann schwingt wieder das andere Ende, dann dreht sich das Stäbchen langsam um seine Querachse, mit den beiden Enden einen Kreis beschreibend, dann wird die Drehung schneller, bis sie auf einmal stille hält. Nach einer kleinen Ruhepause geräth das Stäbchen wieder in Schwingungen, schwimmt dann eine Strecke nach vorwärts, dann nach rückwärts und eilt schliesslich davon. Ist es eine längere Stäbchenkette, die in den Schwärmezustand übergehen soll, so pflegt dieselbe vorerst in kürzere Glieder zu zerfallen, die sich nach und nach von einander entfernen. Sind die einzelnen Glieder schon ein Paar Millimeter (Mikroskopweite) von einander entfernt, so sind sie doch noch nicht im Stande da-

vonzuschwärmen, auch können sie nicht von einander unabhängige Bewegungen ausführen; dreht sich das eine Glied nach rechts, so kann sich gleichzeitig das andere nicht nach links drehen; es folgt der Bewegungsrichtung des Ersteren. Beobachtet man längere Zeit diese Bewegungen, so erhält man den Eindruck, als wenn ein unsichtbares Band beide Glieder festhielte, an dem sie hin und her zerren, um es zu zerreissen. Ich halte es für wahrscheinlich, dass dieses Band in Wirklichkeit vorhanden ist und in der Schleimhülle besteht, welche den Scheinfaden vor seinem Zerfallen gleichmässig bedeckte und beim Auseinanderrücken der einzelnen Fadentheile so lange gedehnt wird, bis sie schliesslich zerreisst. Ich werde auf diesen Punkt im Abschnitte über Zooglaeenbildung noch einmal zurückkommen.

Ueber die Wachsthumsenergie der Stäbchen sowie deren Vermehrung durch Spaltungen finden wir schon Angaben bei Brefeld.[1] Zu den von diesem Forscher angegebenen Details kann ich meinerseits hinzufügen, dass, wenn die Temperatur über 30 ° C. (24 ° R.) erhöht wurde, auch die Theilungen rascher wurden; bei 35 ° C. erlangten die Stäbchen meistentheils schon nach 20 Minuten ihre doppelte Länge und spalteten sich dann in zwei Tochterstäbchen. Eine Erhöhung der Temperatur auf 40 ° C. hatte zur Folge, dass sämmtliche Stäbchen in lebhafte Bewegung übergingen, weshalb es nicht mehr möglich war, die Wachsthums- und Theilungsvorgänge derselben zu verfolgen.

Die so überaus rasche Vermehrung des B. subtilis bringt es mit sich, dass in wenigen Stunden nach Anstellung des Experiments sich in der feuchten Kammer eine üppige Vegetation desselben entwickelt. Dadurch aber wird der in der Flüssigkeit in Lösung befindliche Sauerstoff bald verzehrt und man sieht die Bacillen nach der Mündung der Rinne wandern, durch welche die Luft in die feuchte Kammer hineinströmt. Wird zu dieser Zeit die Rinne mit Wachs verschlossen, so hört bald jede Weiterentwickelung des Bacillus auf; seine Stäbchen sterben ab, indem sie sich schraubenartig winden und verschrumpfen. Bleibt jedoch die Rinne offen, so geht die Entwickelung ruhig weiter vor sich. Ein Theil der Stäbchen behält seine Beweglichkeit und schwärmt um die Mündung der Rinne herum; ein anderer Theil geht in den Ruhezustand über und wächst durch rasch aufeinanderfolgende Theilungen in längere Scheinfäden aus, die, indem sie an einzelnen Stellen umknicken und zerfallen, die auseinandergefallenen Theile aber in Zusammenhang verbleibend sich weiter theilen, bald zu geraden Gallertbündeln, bald zu wirren Gallertknäueln sich gestalten, je nachdem

[1] l. c. p. 521.

die Fadentheile sich parallel aneinandergelegt oder auch unter verschiedenen Winkeln neben und übereinander gelagert haben.

In dem Maasse, wie das Substrat an Nährstoffen ärmer wird und die Vegetation ihrem Abschluss sich nähert, werden auch die Wachsthums- und Theilungsvorgänge verlangsamt, bis sie schliesslich ganz aufhören. Dieser Zeitpunkt trat bei meinen Versuchen meistentheils schon nach 24 Stunden vom Zeitpunkt der Anstellung des Experiments an gerechnet, ein. Es treten jetzt Erscheinungen auf, die den nahen Eintritt der Fructification oder Sporenbildung bekunden. Man beobachtet zuerst, dass sämmmtliche Stäbchen, gleichviel ob sie in Zooglaeaschleim eingebettet liegen oder frei sind, ihre Beweglichkeit verloren haben. Dieser Umstand ist wohl zu beachten, denn soviel ich aus meinen Beobachtungen entnehmen kann, sind sämmtliche aërobie Bacterien, die zu ihrer Entwickelung, namentlich aber zur Sporenbildung des freien Sauerstoffs der Luft bedürfen, im Zustande der Fructification unbeweglich, während die anaërobien Bacterien, deren Fructification von dem Vorhandensein des freien, athmosphärischen Sauerstoffs vollständig unabhängig ist, ihre Beweglichkeit fast bis zur Fertigbildung der Spore beibehalten können. Dann sind die Gliederungen in allen Scheinfäden, selbst in denjenigen, die vorher ganz solid und ungegliedert schienen, scharf und deutlich zu sehen. Schliesslich können die Stäbchen in diesem Stadium etwas dicker erscheinen, aber dies tritt nur dann ein, wonn sie in den vorhergehenden Stadien sehr dünn waren. Diese Verdickung, die sich auf die ganze Länge des Stäbchens gleichmässig erstreckt, ist so schwach, dass man sie erst dann gewahr wird, wenn in einem Scheinfaden einzelne Glieder desselben in ihrer Entwickelung weiter fortgerückt sind, als die übrigen (Fig. 4a). Wie gering und unbeständig dieselbe ist, mag aus dem Umstande ersehen werden, dass sie weder von Cohn noch von Brefeld, die doch diese Art sehr eingehend studirt haben, erwähnt wird.

Das Eintreten der Fructification macht sich durch eine Trübung des vorher gleichmässigen Inhalts des Stäbchens bemerkbar; es erscheinen in diesem hellere und dunklere Partieen, die aber wegen der Kleinheit des Objects nur bei stärkeren Vergrösserungen und günstiger Beleuchtung wahrgenommen werden können. In einem etwas weiter fortgerückten Stadium sieht man an irgend einer Stelle des Stäbchens, zuweilen in der Mitte, häufiger näher dem einen Ende desselben, einen lichtglänzenden Tropfen erscheinen (Fig. 4a); um diesen sammelt sich der übrige Inhalt des Stäbchens und nimmt schliesslich eine ovoide bis cylindrische Gestalt an, diejenige, welche die nachher entleerte Spore zeigt. Bei längeren und dünnen Stäbchen lässt sich an der Stelle, wo sich die Spore gebildet hat, eine schwache Anschwellung beobachten; sie tritt schärfer hervor, sobald die

Mutterzellmembran der Spore sich aufzulösen beginnt, weil dann die Contouren des Stäbchens undeutlich werden und nur die stark lichtbrechende Spore deutlich hervortritt.

Die entleerten Sporen sind winzig klein, weshalb auch ihre Messungen keine Sicherheit geben; doch glaube ich, dass die von Cohn[1] angegebenen Dimensionen zu hoch gegriffen sind. Er schlägt ihre Länge auf 1,5—2,2 Mikrom., ihre Breite auf 0,8 Mikrom. an und dies sind fast dieselben Dimensionen, welche ich bei den doppelt so grossen (linearisch genommen) Sporen des später zu beschreibenden Clostridium butyricum fand. Es ist wahrscheinlich, dass Cohn bei seinen Messungen den hellen Lichthof, welcher die Sporen des B. subtilis nach aussen umgibt, mit in Rechnung zog, was ich aber unterlassen habe, da ich denselben als nicht in die Constitution der Sporen gehörend betrachte.

Die nach dem beschriebenen Verfahren ermittelte Entwickelungsgeschichte von B. subtilis wurde noch mit Hülfe von Culturen, die in gewöhnlichen Reagenscylindern angesetzt waren, geprüft. Ich habe zu diesen Culturen ausser Dextrinlösung noch gekochte und mit destillirtem Wasser versetzte Kartoffelstücke verwendet. Die Cylinder wurden zu $^2/_3$ mit dem betreffenden Nährmedium gefüllt und nach Inficirung mit Sporen und Verstopfung der Oeffnung mit Baumwolle 10 Minuten in einem Wasserbade gekocht. Ich habe stets mehrere (4—6) in dieser Weise hergestellte Culturen gleichzeitig angesetzt; dieselben wurden in bestimmter Reihenfolge und in bestimmten Zeitabschnitten geöffnet und mikroskopisch untersucht.

Die Beobachtungen, die ich aus diesen Versuchen gesammelt habe, fasse ich im Folgenden kurz zusammen; sie weichen in keinem wesentlichen Punkte von denjenigen ab, die von Cohn für seine Culturen mit dem Heubacillus angegeben werden.

Nach den ersten zwölf Stunden bemerkt man äusserlich noch keine sichtbare Veränderung in der Nährlösung; diese ist vollkommen klar und scheinbar unverändert. Trotzdem hat sich in derselben schon ein reges Leben entwickelt. Es sind namentlich lebhaft schwärmende Einzel- und Doppelstäbchen, auch längere Fäden, die sich zu dieser Zeit in der Cultur vorfinden; aber auch kleinere Schleimcolonien lassen sich, wenn auch noch in geringer Anzahl, auffinden.

Nach 24—30 Stunden ist die Flüssigkeit deutlich getrübt, in den oberen Schichten mehr, als in den unteren; ein zartes, schleimiges aus Bündeln und Knäueln von Fäden bestehendes Häutchen hat sich an ihrer Oberfläche abgesondert. In den tieferen Schichten der Flüssigkeit haben die Schleimcolonien bedeutend an Zahl zugenommen.

[1] l. c. p. 264.

In der darauf folgenden Zeit verdickt sich das auf der Oberfläche befindliche Bacillushäutchen und nimmt zugleich eine runzlige, fettige Beschaffenheit an. Gleichzeitig klären sich die tieferen Schichten der Flüssigkeit auf und veröden; nach 42—48 Stunden hat sich die ganze Bacillusvegetation an die Oberfläche der Flüssigkeit geflüchtet. Eine Gasentwickelung findet in dem ganzen Zeitraume nicht statt.[1]

Jetzt tritt auch die Sporenbildung ein und zwar zuvörderst in den zu oberst gelegenen Schichten der Bacillushaut; von da schreitet sie zu den unteren Schichten. Ist die Bacillushaut dick, so gelangen meist die untersten Schichten derselben nicht mehr zur Sporenbildung, wahrscheinlich in Folge dessen, dass der Sauerstoff der Luft nicht bis in diese Region vorzudringen vermag, indem er darin durch den starken Verbrauch der oberen Schichten und die überspannte, dicke Schleimdecke gehindert wird.

Nach 60—72 Stunden war fast jedes Leben in meinen Culturen erloschen.

Die hier mitgetheilten Beobachtungen stimmen mit denjenigen, die Cohn bei seinen Versuchen mit gekochten Heuaufgüssen gemacht hat, so vollständig überein, dass an der Identität meiner Bacterie mit dem Heubacillus von Cohn nicht gezweifelt werden kann. Das Auftreten der Trübung, die allmälige Klärung der Flüssigkeit in den unteren Schichten, die Absonderung einer Schleimhaut auf der Oberfläche der Flüssigkeit, das Runzligwerden dieser Schleimhaut, die Bildung der Sporen unter dem directen Einfluss der athmosphärischen Luft, das baldige Erlöschen der Vegetation, alle diese Erscheinungen in ihrem Wechsel und Aufeinanderfolge stellten sich bei meinen Versuchen mit solcher Präcision ein, wie es nur irgend möglich ist. Aber alle diese Erscheinungen weisen auch darauf hin, dass wenig-

[1] Da eine Gasausscheidung bei Bacillusvegetationen nicht beobachtet wird, so drängt sich die Frage auf, auf welche Weise die in der Tiefe befindlichen Schleimcolonien auf die Oberfläche der Flüssigkeit befördert werden. Es sind meines Erachtens nur drei Möglichkeiten vorhanden. Entweder findet eine Gasausscheidung statt, die zwar zu schwach ist, um wahrgenommen werden zu können, aber eben hinreicht, um die schon an sich sehr leichten Schleimcolonien (da sie in der Flüssigkeit schweben, ohne unterzusinken) auf die Oberfläche zu heben; oder die Colonien werden zu einer gewissen Zeit und bei einer gewissen räumlichen Ausdehnung durch den ausgesonderten Schleim specifisch leichter, als die umgebende Flüssigkeit, und streben nun, dem Gesetze der Schwere folgend, emporzutauchen; oder auch die sie zusammensetzenden Stäbchen lösen sich aus ihrem Verbande, durchbrechen die schleimige Umhüllung und steuern nun jedes für sich dem Orte zu, wo sie für ihre Weiterentwickelung günstigere Lebensbedingungen, als in der Tiefe der Nährlösungen, vorfinden. Diese letztere Möglichkeit halte ich für unwahrscheinlich, denn die wolkenartige Trübung, die durch die Ansammlung von Schleimcolonien in der Flüssigkeit verursacht wird, hebt sich nur ganz allmälig von unten nach oben. Dagegen muss ich dahingestellt sein lassen, welche von den beiden anderen Möglichkeiten der Wahrheit entspricht.

stens unter den gegebenen Bedingungen (Luftzutritt) B. subtilis kein Gährungserreger ist. Cohn selbst äussert sich darüber in seiner schon oben citirten Arbeit in folgender Weise (p. 261): „Wir wissen bereits, „dass jene Farbenveränderung (der Heuinfusion) von einer sauren Gährung „herrührt, die in Folge des Kochens unterblieb." Und einige Blätter weiter (p. 273): „Aber gerade bei den der Luft frei ausgesetzten und von „reicher Bacillushaut bedeckten Aufgüssen findet keine auffallende „Fermentation statt; dieselben blieben, nachdem sie sich kurze Zeit getrübt, später völlig unverändert." — Indess hat Cohn vermuthet, dass bei vollständigem Luftausschluss B. subtilis Buttersäuregährung erregen kann, und er stützte diese Vermuthung auf den Umstand, dass bei Buttersäuregährungen sich ähnliche, stäbchen- und fadenförmige Formen entwickeln, wie sie dem B. subtilis eigen sind.

Um mich über diesen Punkt aufzuklären, habe ich eine Reihe von besonderen Versuchen unternommen, die darauf hinzielten, die Luft aus den Culturen von B. subtilis möglichst zu entfernen. Zu dem Zweck habe ich mich theils zugeschmolzener Glascylinder, theils auch grösserer und entsprechend eingerichteter Glaskolben bedient. Zu den Versuchen in Glascylindern wurden als Nährmedium Dextrinlösung, gekochte Kartoffelstücke und gekochte Lupinensamen, zu den letzteren blos Dextrinlösung verwendet.

Die Glascylinder, welche von starkem Glas waren, wurden, nachdem sie mit dem entsprechenden Nährsubstrat etwas über die Hälfte gefüllt waren, in einem Wasserbade 20—30 Minuten lang gekocht, theils, um die Luft aus dem Substrat zu vertreiben, theils, um dasselbe zu sterilisiren. Sodann wurden sie nach rascher Abkühlung im kalten, fliessenden Wasser mit reinem Sporenmaterial inficirt und nach Zuschliessung mit einem Baumwollenpfropf ihr oberer Theil möglichst tief über einer Gebläseflamme in eine feine Spitze ausgezogen. Nach Abbrechen der Spitze wanderten sie zum zweiten Male in das Wasserbad, um nach 10 Minuten langem Kochen sogleich über einer daneben stehenden Gasflamme von Neuem zugeschmolzen zu werden. Der Controle wegen wurden andere in derselben Weise behandelte Cylinder nach dem zweiten Aufkochen erst dann zugeschmolzen, nachdem sich die im oberen Raume des Cylinders angesammelten Dämpfe niedergeschlagen hatten, wodurch eine Quantität Luft in diesen Cylindern eingeschlossen blieb.

Diese Versuche, die mit besonderer Sorgfalt ausgeführt waren, lieferten aber blos eine Bestätigung dessen, was schon Cohn bei seinen eigenen, in ähnlicher Weise ausgeführten Versuchen gefunden hat. Er sagt (l. c. p. 272): „In allen unseren Versuchen mit zugeschmolzenen und daher mit „einer beschränkten Luftmenge versehenen Kölbchen, deren Zahl weit über

„100 betrug, entwickelte sich auf der Oberfläche der gekochten Heuaufgüsse „zwar immer das aus ruhenden Bacillusfäden in parallelen Reihen oder „Schleimbündeln gebildete Häutchen, aber es blieb stets äusserst dünn, „zart, fettig, nur sehr selten begann die Sporenbildung."

In keinem von meinen Versuchscylindern hat sich Gährung eingestellt. In denjenigen, die luftfrei oder wenigstens fast luftfrei hergestellt waren, hat sich überhaupt kein Leben, geschweige denn eine Gährung entwickelt. Dagegen war in allen den Cylindern, die mit Lufteinschluss präparirt waren, schon am dritten, spätestens am vierten Tage eine dürftige Schleimansammlung an der Oberfläche der Flüssigkeit zu sehen; dabei blieb aber die Flüssigkeit sowohl in dieser Zeit, als auch in folgenden Tagen vollkommen klar und unverändert; von Gasausscheidung oder sonstigen Erscheinungen der Gährung war keine Spur zu bemerken. Wurde ein solcher Cylinder am dritten oder vierten Tage nach seiner Herstellung geöffnet und dadurch in Communication mit der äusseren Luft gesetzt, so trat schon am folgenden Tage eine Trübung der Flüssigkeit ein und die Schleimdecke verstärkte sich. Erfolgte jedoch das Oeffnen des Cylinders erst nach 10 Tagen, so war eine Wiederbelebung der Bacillusvegetation nicht mehr möglich, und man kann daraus schliessen, dass dieselbe an Asphyxie abgestorben war.

Diese Versuche waren schon hinreichend, um mir zu beweisen, dass B. subtilis weder das Ferment der Buttersäuregährung noch auch kein sonstiges Ferment darstellen kann; denn wäre er ein solches, so müsste er, wenn er sich einmal entwickelt und vermehrt hat, mit dem Augenblick, wo ihm der Sauerstoff zu seiner Weiterentwickelung mangelt, Fermentwirkungen äussern, wie wir das von andern Fermenten, wie Sprosshefe, Mucorhefe etc., wissen. Dies ist aber bei B. subtilis nicht der Fall; er stellt unter diesen Umständen alle seine Lebensfunctionen ein, er stirbt einfach ab.

Um jedoch vollständige Gewissheit zu erlangen, habe ich noch ein Paar Versuche im grösseren Maassstabe ausgeführt, bei denen es möglich war, die Luft noch vollständiger abzuschliessen. Diese Versuche, zu welchen grössere Glaskolben nebst Dextrinlösung in Anwendung kamen, wurden nach einem ähnlichen Verfahren ausgeführt, wie ich das weiter unten bei dem eigentlichen Buttersäureferment ausführlich beschreiben werde. Doch konnte auch bei diesen Versuchen B. subtilis nicht in Gährung gebracht werden.

Die negativen Resultate, welche sich aus allen diesen Versuchen übereinstimmend ergaben, können weder auf das Unzureichende der Methode, noch auf das Unzweckmässige der verwendeten Substrate geschoben werden; denn mit Hülfe derselben Methode und bei Anwendung derselben Nähr-

substrate habe ich, wenn ich statt Sporen des B. subtilis diejenigen des echten Buttersäureferments aussäete, stets positive Resultate erhalten. Sie beweisen eben, dass B. subtilis unter keinen Umständen, weder bei Luftzutritt, noch bei Luftausschluss Buttersäuregährungen und auch keine anderen Gährungen erregen kann.[1])

Auch Brefeld weiss Nichts von irgend welchen Fermentwirkungen des B. subtilis, wenigstens werden solche von ihm für diese Bacterie nicht angegeben; aus der gegebenen Schilderung ist aber zu ersehen, dass er B. subtilis für eine aërobie Bacterie hält, die sich in Nichts von anderen aërobien Wesen unterscheidet.

Fitz[2]), dessen Arbeiten ich erst nach Abschluss dieser Untersuchungen kennen gelernt habe, unterscheidet einen zweifachen B. subtilis. Der eine bildet auf der Oberfläche der Flüssigkeiten Zooglaeamassen, die in Sporenbildung übergehen; „dieser Bacillus ist also ein Aërobium." Der andere lebt bei Sauerstoffausschluss und kann Stärke in Gährung versetzen, wobei er Buttersäure nebst Aethylalkohol producirt. Mir ist dieser letzte Bacillus in meinen Versuchen nie begegnet. Sollte sich die Beobachtung von Fitz bewahrheiten, so würde der Isomorphismus der Gattung Bacillus noch um eine neue Form bereichert werden, denn bekanntlich ist auch der Milzbrand erregende B. Anthracis in allen Einzelheiten der Gestalt und Entwickelungsgeschichte (soweit letztere bekannt ist) dem B. subtilis gleich.

2) B. Ulna Cohn. (Fig. 5—7. Taf. I.) Diese Bacterie scheint zu den minder verbreiteten Arten zu gehören. Sie wurde früher nur einmal in einem Decoct von gekochtem Hühnereiweiss von Cohn[3]) beobachtet und als besondere Art erkannt. Ebenfalls habe ich sie zuerst in Culturen mit gekochtem Hühnereiweiss, die zu anderweitigen Zwecken bestimmt waren, spontan auftreten sehen, und da dies zu wiederholten Malen geschah und die Culturen vor Eindringen fremder Keime von Aussen durch vorheriges Aufkochen und Watteverschluss geschützt waren, so glaubte ich der Sache näher auf den Grund gehen zu müssen. Ich befand mich glücklicherweise noch im Besitz eines von den Eiern, aus welchen die Eiweissstücke entnommen wurden, und als ich dasselbe unter dem Mikroskop untersuchte, fand ich zu meiner nicht geringen Ueberraschung unter der Schale eine be-

---

[1] Zu denselben Resultaten gelangte auch Chamberland, wie ich nachträglich, als diese Arbeit schon zum Druck übergeben wurde, erfahren habe. (Annales scientif. de l'école normale super. Serie II. t. 7. 1878. Supplément).

[2] Fitz. Ueber Spaltpilzgährungen. Berichte der deutschen chemisch. Gesellschaft. Bd. XI. p. 47 ff. und p. 1892 ff.

[3] Cohn. Beiträge z. Biologie d. Pflanz. Bd. I. H. 2. p. 177.

trächtliche Anzahl von grossen Bacteriensporen, die nur dem B. Ulna angehören konnten. Nun war es mir klar, auf welchen Wegen derselbe in meine Culturen hineingelangt ist und weshalb er auch von Cohn im Hühnereiweissdecoct gefunden wurde. — Diese Thatsachen scheinen dafür zu sprechen, dass sich B. Ulna in irgend einer Weise an der Verderbniss der Eier betheiligt; indessen habe ich die Sache nicht weiter verfolgt und es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, darüber Licht zu verbreiten.

Die Stäbchen von B. Ulna sind 1,5—2,2 Mikrom. breit und von verschiedener Länge; die kürzesten, die ich gemessen habe, waren 3 Mikrom. lang, die längsten können das Vierfache dieser Länge erreichen. Sie bewegen sich in der für B. subtilis charakteristischen Weise, doch sind ihre Bewegungen minder lebhaft und von öfteren Ruhepausen begleitet. Der Inhalt der Stäbchen ist anfangs körnchenfrei, fast hyalin; in älteren Stadien erscheint er fein granulirt (Fig. 5.) Dagegen beobachtet man besonders in den jüngeren Entwickelungsstadien an den beiden Enden des Stäbchens, oft auch in der Mitte lichtere, mattglänzende Streifen, die man als Verdichtungen des Plasma deuten könnte (Fig. 5x.); ob diese Erscheinung mit dem Längenwachsthum und den Spaltungen der Stäbchen im Zusammenhange steht, muss ich dahingestellt sein lassen.

Cultivirt man B. Ulna in Aufgüssen von gekochtem Hühnereiweiss, die beiläufig gesagt sich noch am besten für seine Aufzucht eignen, so sieht man schon am anderen Tage die Flüssigkeit trübe werden und wolkige Massen nach oben absondern. Letztere sammeln sich nach einiger Zeit auf der Oberfläche der Flüssigkeit und verschmelzen hier zu einem dicken, aber trockenen Häutchen, welches aus sehr langen in einander verfilzten Bündeln und Knäueln von Scheinfäden besteht; Schleimaussonderung findet dabei nicht statt. Am dritten, spätestens am vierten Tage nach Ansetzung der Cultur, tritt in dem Häutchen Fructification ein. Fig. 6a. Taf. I zeigt zwei kürzere fructificirende Scheinfäden. Man ersieht aus der Figur, dass die Fructification damit beginnt, dass in dem Inhalte des Stäbchens sich entweder eine Anzahl kleiner, mattglänzender Tröpfchen differenzirt, die dann zu einem grösseren Tropfen verschmelzen, oder, was häufiger der Fall ist, es erscheint von Anfang an ein solcher grösserer Tropfen. Dieser, Anfangs von undeutlichen Umrissen und unregelmässiger Gestalt, vergrössert sich auf Kosten des Plasma des Stäbchens und gestaltet sich schliesslich zu einer scharf begrenzten, oblongen Spore. Sobald dies geschehen, ist auch der übrige Raum des Stäbchens entleert; er erscheint blass und hyalin. Oft bleibt aber, namentlich bei längeren Stäbchen, ein Plasmaklümpchen, welches zum Aufbau der Spore keine Verwendung fand, neben der letzteren

als kleines, glänzendes Tröpfchen liegen. (Fig. 6 a. und b. bei x). Die Sporen sind 2,5—2,8 Mikrom. lang und über einen Mikrom. breit.

Die Sporenkeimung habe ich bei B. Ulna nicht beobachtet, denn, als es mir möglich war, Keimungsversuche auszuführen, konnte ich nicht mehr Reinculturen desselben erlangen; stets fand sich in den Culturen B. subtilis und noch eine andere spindelförmige Bacterie und diese vereitelten alle meine Bestrebungen.

Vergleicht man die eben geschilderte Entwickelungsgeschichte des B. Ulna mit derjenigen von B. subtilis, so gewinnt man die Ueberzeugung, dass beide Bacterien sehr nahe einander stehen müssen. Beide haben das Gemeinsame, dass ihre Stäbchen cylindrisch sind und diese Gestalt auch im fructificirenden Zustande beibehalten; beide können schon zur Zeit des lebhaften Wachsthums und Theilungen ihre definitive Dicke erreichen; beide wachsen vor der Fructification in überaus lange Scheinfäden aus, die sich bald zu parallelen Bündeln anreihen, bald in einander verfilzen; es lässt sich vermuthen, dass die ebenfalls gleichgestalteten Sporen von B. Ulna in derselben Weise auskeimen, wie wir dies bei B. subtilis gesehen haben. Was den Mangel einer Schleimaussonderung bei B. Ulna betrifft, so bietet dieser schon an und für sich keinen wesentlichen Unterschied; doch kann auch B. Ulna Schleimcolonien bilden, wie ich mich davon in Culturen von Dextrinlösung und gekochten Kartoffelstückchen überzeugt habe. — Auch in Bezug auf den Sauerstoffbedarf scheint sich B. Ulna ähnlich dem B. subtilis zu verhalten, denn er gelangt nur auf der Oberfläche der Flüssigkeit zur Sporenbildung, während die in der Tiefe vegetirenden Stäbchen meistentheils zu Grunde gehen.

Ueber seine weiteren physiologischen und biologischen Eigenschaften mögen noch folgende Details erwähnt werden. Er scheint eine reichhaltige, eiweissartige Nahrung zu beanspruchen, denn er gedeiht am besten in Aufgüssen von gekochtem Hühnereiweiss, während er in solchen von gekochten Kartoffelstücken und in Dextrinlösungen viel schwieriger fortkommt und sich nicht so ausgiebig vermehrt. Dabei werden die Eiweissstücke in keiner auffallenden Weise angegriffen; sie behalten ihre Consistenz, sie zerfliessen nicht; auch verbreiten sie keinen Fäulnissgeruch.

Auffallend ist bei B. Ulna das häufige Fehlschlagen seiner Culturen. Sobald die Cultur nicht rein ist, stirbt er unter eigenthümlichen Zersetzungserscheinungen ab. In den Stäbchen treten zahlreiche, stark lichtbrechende Tröpfchen auf, gerade, wie bei der Sporenbildung; zuweilen fliessen dieselben auch zu grösseren Plasmaklümpchen zusammen, was an den Vorgang der Sporenbildung noch mehr erinnert; aber dabei bleibt es auch stehen, nur hie und da kommt es zur wirklichen Sporenentfaltung. Die Zellmem-

branen der Stäbchen lösen sich sich jetzt auf und die frei gewordenen Körnchen mengen sich mit dem übrigen Absatz am Boden des Gefässes. Ich glaube diese Körnchen einfach als Zersetzungsprodukte auffassen zu müssen, die keiner Weiterentwickelung fähig sind, da sie von verschiedener Grösse und unregelmässiger Gestalt sind. Fig. 7 a. und b. stellt zwei Bruchstücke solcher zersetzter Fäden dar, in b haben sich drei Sporen entwickelt.

Dass in unreinen Culturen B. Ulna sich nicht zu erhalten vermag, lässt sich dadurch erklären, dass er in Folge seiner beträchtlichen Grösse sich schwieriger zu ernähren vermag; auch ist er, nachdem er in lange Scheinfäden ausgewachsen und dadurch seine Beweglichkeit eingebüsst hat, schwieriger auf die Oberfläche der Flüssigkeit zu transportiren, um hier unter dem Einfluss der Luft seine endgültige Ausbildung zu erlangen. Diese beiden Umstände bringen es mit sich, dass er sich mit den zusammenlebenden Arten nicht in Concurrenz zu erhalten vermag und von seinen lebenskräftigeren Mitbewerbern überwältigt wird.

---

## Gattung **Clostridium** n. g.[1]

Auf die Gründe, die mich zur Aufstellung dieser neuen Gattung bewogen haben, werde ich weiter unten zu sprechen kommen. Ich reihe dieser Gattung zwei Arten Cl. butyricum und Cl. Polymyxa ein; die erste war schon früher bekannt und von van Tieghem zur Gattung Bacillus, von anderen Autoren zu Bacterium geschlagen; letztere ist meines Wissens früher noch nie beobachtet worden. Ob auch andere Arten, namentlich das von Warming[2] aufgestellte Bacterium fusiforme, sowie auch Hansen's[3] B. Carlsbergense, B. pyriforme etc. hierher gehören, mögen spätere entwickelungsgeschichtliche Untersuchungen belehren.

---

[1] Um die Synonymik der Bacterien nicht mit einem neuen Worte zu bereichern, habe ich den von Trécul für eine Habitusform des Buttersäureferments zuerst angewendeten Namen Clostridium zur Bezeichnung meiner Gattung gewählt.

[2] Warming. Observations sur quelques Bactéries. Separatabdruck. p. 30.

[3] Hansen, Emil Chr. Contributions à la connaissance des organismes, qui peuvent se trouver dans la bière et le moût de bière et y vivre. Resumé aus den Medellelser fra Carlsberg Laboratoriet. 1879. p. 74.

1) Cl. butyricum n. sp.[1] (Fig. 1—4. Taf. II.) Buttersäureferment. (Vibrion butyrique Pasteur; Amylobacter Clostridium, Urocephalum Trécul; Bacillus Amylobacter v. Tiegh; Bacterium Navicula Reinke und Berthold). Von allen den zahlreichen Spaltpilzformen, die das Mikroskop dem forschenden Auge des Menschen entdeckt hat, ist diese zweifellos die merkwürdigste und am meisten dazu geeignet, das Interesse sowohl des Mikrographen als auch des Biologen zu erregen. Sie ist es nicht so durch ihre, wie es scheint, sehr allgemeine Verbreitung in der Natur, auch nicht durch den Gang ihrer Entwickelungsgeschichte, wenngleich auch dieser manche Auffälligkeiten bietet, als vielmehr durch ihr Verhalten dem Sauerstoff der Luft gegenüber, welches ihr eine ausnahmsweise Stellung unter allen lebenden Wesen verleiht, sowie auch durch die eigenthümliche Eigenschaft, unter gewissen, noch näher festzustellenden Bedingungen eine Verbindung in sich aufzuspeichern, welche lebhaft an die lösliche Stärke mancher höheren Pflanzengattungen erinnert. Namentlich diese letztere Eigenschaft ist Veranlassung gewesen zu mancher Confusion und zum Entstehen von wunderbaren Theorien sowohl über ihre Herkunft, als auch ihre Rolle im Haushalte der Natur. Ohne auf diese Theorien hier einzugehen, was mich zu einer Schilderung der Forschungsgeschichte dieser Bacterie führen würde, verweise ich blos auf die schon oben citirte Literatur und fange gleich mit der Beschreibung ihrer Entwickelungsgeschichte an.

Die jungen, eben aus der Keimung hervorgegangenen Stäbchen, sind Anfangs bewegungslos; sie gehen erst nach ein Paar bis mehreren Theilungen in den beweglichen Zustand über. In stark gährenden Flüssigkeiten können sie Zeit ihres Lebens bis zur Ausbildung der Sporen den Schwärmerzustand beibehalten. Sind sie dagegen auf feste Nahrung angewiesen (Stärke, Cellulose), so schwimmen sie an dieselbe heran und setzen sich mit dem einen Ende fest; ihre Anheftung ist dabei eine so starke, dass sie weder durch mechanische Stösse, noch durch starke Flüssigkeitsströmungen überwunden wird; nach einiger Zeit können sie sich von selbst ablösen und davonschwärmen. Nicht nur die einzelnen Stäbchen, auch längere, aus mehreren Gliedern bestehende Ketten nehmen den Schwärmerzustand an; dabei sieht man oft in Folge der Zerrungen, die bei der Bewegung an den Gelenken stattfinden, die Kette in kürzere Glieder zerfallen, die nun neue Bahnen

[1] Die Literatur zur Systematik dieser Bacterie siehe in folgenden Schriften: Trécul. Comptes rendus 1865. t. LXI. und 1867. t. LXV.; auch in den Annales des sciences natur. Serié V. t. VII. 1867. — van Tieghem. Sur le Bacillus Amylobacter et son rôle dans la putréfaction des tissus végétaux. Bulletins de la Société botan. de France, t. 24. 1877. — Reinke und Berthold. Die Zersetzung der Kartoffel durch Pilze. Berlin 1879.

für sich einschlagen. — Die Länge der jungen, cylindrischen Stäbchen beträgt bei den vorherrschenden Formen 3—10 Mikrom., aber auch kürzere und längere Stäbchen sind eben nicht selten; ihre Breite bleibt unter 1 Mikrom. Oft aber sind die Stäbchen so dünn, dass sie von denen des Bacillus subtilis nicht zu unterscheiden sind; auch längere, scheinbar ungegliederte Fäden kommen bei dieser Bacterie zuweilen (namentlich bei länger andauernden Gährungen) vor. (Fig. 1.)

Bei niederen Temperaturen und schwachen Gährungsäusserungen werden die Bewegungen der Stäbchen verlangsamt und ein grosser Theil derselben zeigt überhaupt keine Bewegungen; damit hängt es zusammen, dass unter diesen Umständen Zooglaeenbildung eintritt. Aber auch bei Temperaturgraden, die für die Buttersäuregährung die günstigsten sind, habe ich Zooglaeenbildung in nicht vor Luftzutritt geschützten Culturen beobachtet, was dem früheren Fall gleichkommt, da der Sauerstoff der Luft die Fermentwirkung der Bacterie beeinträchtigt; die Culturen müssen jedoch unrein sein, denn in vollkommen reinen und unter Einfluss der Luft befindlichen Culturen bleibt überhaupt jede Entwickelung des Cl. butyricum aus.[1] — Ich werde auf die Vorgänge der Zooglaeenbildung bei dieser Bacterie in einem besonderen Abschnitt zurückkommen. Fig. 3 Taf. II stellt zwei Entwickelungszustände einer und derselben Zooglaea, die im Abstande von 14 Stunden aufgenommen wurden.

Cultivirt man Cl. butyricum in der oben beschriebenen feuchten Kammer mit der Vorsicht, dass Luftzutritt zur Cultur nicht stattfindet, so lassen sich die Wachsthums- und Theilungsvorgänge direct verfolgen. Bei einer Temperatur von 35° C. wachsen die Stäbchen in 30—35 Minuten zur doppelten Länge heran und spalten sich nachher; bei 30° C. erfolgt die Spaltung erst nach 45—50 Minuten. Bei niedrigeren, sowie auch höheren Temperaturen habe ich die Theilungen der Stäbchen nicht verfolgt.

Doch nicht in allen Stäbchen halten die Theilungen gleichen Schritt, selbst dann nicht, wenn dieselben aus der Theilung eines und desselben Urstäbchens hervorgegangen sind. Vielmehr zeigen die einzelnen Stäbchen in dieser Hinsicht namhafte Unterschiede, welche sich entweder in der Weise äussern, dass das Stäbchen blos in die Länge wächst, ohne sich zu spalten, wo es dann die vielfache Länge seiner Geschwister erreicht, oder, dass es sein Längenwachsthum einstellt, um damit eine neue Periode seiner Ent-

[1] Wir wissen bereits aus den schönen Untersuchungen von Pasteur, dass die aërobien Bacterien die Fähigkeit besitzen, jede Spur von Sauerstoff aus der Flüssigkeit, in der sie leben, zu entfernen; dadurch aber werden die Bedingungen geschaffen, welche das Fortkommen des Buttersäureferments in solchen Flüssigkeiten ermöglichen. Études sur la bière p. 285—286.

wickelung zu beginnen. Dadurch kommt es, dass man in einem Scheinfaden oder einer Schleimcolonie, die aus der Theilung eines einzelnen Stäbchens entstanden sind, nicht nur verschiedenen Längen der Stäbchen begegnet, sondern auch ziemlich weit von einander abstehende Entwickelungszustände zu sehen bekommt. Zugleich erklärt es sich dadurch, weshalb man in älteren Culturen neben fertigen und frei gewordenen Sporen, noch junge und sich theilende Stäbchen vorfindet.

Sobald das Stäbchen sein Längenwachsthum eingestellt hat, beginnt dasselbe in die Dicke zu wachsen. Die Art und Weise, wie sich das Dickenwachsthum vollzieht, sowie die schliesslichen Formgestaltungen der Stäbchen, welche dasselbe zu Stande bringt, hängen im gewissen Grade von der Länge ab, welche das cylindrische Stäbchen zuvor erreicht hat. Ist das Stäbchen kurz, nur 4—5 Mikrom. lang, so verdickt sich stark seine mittlere Region und es erhält dadurch die Gestalt einer kurzen, aber bauchigen Spindel. (Fig. 2a). Bei längeren, von 6 – 12 Mikrom. langen Stäbchen, erfolgt die Verdickung in zweierlei Weise; entweder ist sie ebenfalls in der Mitte am stärksten und verjüngt sich von da nach den beiden Enden zu, und in diesem Falle nimmt das Stäbchen die Form einer verlängerten, echten Spindel oder eines schmalen Ellipsoids (Fig. 2b), oder aber sie localisirt sich auf eines der beiden Enden, woraus eine Kaulquappenform oder eine geschwänzte Kopfform resultirt (Fig. 2c). Diese letztere Form bin ich geneigt als eine Combination einer Spindelform mit einem abortirten, cylindrischen Stäbchen aufzufassen. Man kann nämlich annehmen, dass von zwei, eben im Entstehen begriffenen Stäbchen, das eine sich zu verdicken beginnt, ehe noch die scheidende Wand zwischen beiden sich ausgebildet hat; dadurch aber wird in dem anschwellenden, also auch lebenskräftigeren Stäbchen ein Vorgang eingeleitet, welcher zu seiner Vollendung eine stärkere Accumulation von Plasma benöthigt; es entsteht ein Plasmastrom nach dem Orte der Anschwellung, welcher die Ausbildung der Scheidewand und die selbstständige Weiterentwickelung des anderen Stäbchens verhindert. In der That sieht man oft an solchen geschwänzten Kopfformen die Scheidewand später auftreten und den „Schwanz" sich selbstständig weiter entwickeln (Fig. 2c bei x). Ist die hier vertretene Ansicht die richtige, so kann man die Spindelform als „Grundform" aller Verdickungsgestaltungen acceptiren.[1])

Zwischen diesen drei Hauptformen, der Spindel-, Ellipsoid- und Kaulquappenform, existiren auch Zwischenformen, welche den Uebergang von

[1] Es ist nicht nothwendig, dass die Kaulquappenform sich in allen Fällen durch Abortiren eines Stäbchens ausbildet, dagegen spricht sogar der Umstand, dass diese Form zuweilen die vorherrschende ist, und es ist nicht wahrscheinlich, dass die Abortirung so häufig stattfände. Viel wahrscheinlicher ist es, anzunehmen, dass sich auf die-

einer zur anderen vermitteln. In der Regel treten in einer und derselben Cultur alle Formen unter einander gemengt auf; zuweilen ist aber die eine oder die andere die vorherrschende. Allgemein kann gesagt werden, dass in schwach gährenden Substraten die Spindelform die häufigste ist; in stark gährenden erlangen die Ellipsoid- und Kopfformen die Ueberzahl. Zu erwähnen wäre noch, dass ich aus Sporen der einen Form gleich in der nächsten Generation die beiden anderen erhalten habe; sie haben demnach keine Beständigkeit, sie sind eben Formen und nicht Varietäten.

Die Dicke der angeschwollenen Stäbchen beträgt 1,8—2,6 Mikrom.; somit verdickt sich das Stäbchen um das Doppelte bis über das Dreifache seiner ursprünglichen Breite.

Mit den neuen Formgestaltungen, die durch die Verdickung herbeigeführt werden, erleidet auch die Constitution der Stäbchen gewisse Veränderungen. Zuerst wird durch die Volumenzunahme eine stärkere Ernährung der Stäbchen bedingt, die sich dadurch äussert, dass das Plasma sich verdichtet und ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen erhält; dabei bleibt dasselbe in schwach gährenden Flüssigkeiten hyalin, während es sich in stark gährenden meistentheils trübt. Dann aber wird die Membran des Stäbchens bedeutend verdickt. Man kann sich davon leicht überzeugen, wenn man einen Tropfen Flüssigkeit mit angeschwollenen Stäbchen unter das Deckglas bringt und denselben langsam verdunsten lässt. Nachdem der Tropfen vollständig verdunstet und in Folge dessen das Deckglas stark an das Objectglas angepresst ist, lässt sich an den angeschwollenen Stäbchen bei mikroskopischer Untersuchung eine derbe, doppelt contourirte Membran deutlich unterscheiden; dagegen bleibt bei jungen, noch cylindrischen Stäbchen selbst unter diesen Umständen die Membran undeutlich, kaum erkennbar. Die Doppelcontourirung der Membran der angeschwollenen Stäbchen tritt auch dann hervor, wenn dieselbe nach Ausbildung der Spore ihrer Auflösung und Vernichtung entgegengeht.

Nachdem die Stäbchen zu ihrer definitiven Grösse angeschwollen sind, tritt bald die Sporenbildung ein. Dieselbe findet in der üblichen, schon oben für Bacillus geschilderten Weise statt, indem in dem vorher gleichmässigen oder auch durch kleinere mattglänzende Tröpfchen getrübten Inhalte ein grösserer, stark lichtbrechender Tropfen sich aussondert, welcher nach und nach das gesammte Plasma des Stäbchens an sich heranzieht und zu einem ovoiden bis fast cylindrischen Körper sich gestaltet, der nach Um-

sem Wege nach und nach eine Formvarietät ausgebildet hat, welche unter ungünstigen Lebensbedingungen viel rascher und mit möglichster Krafterspariss zum Ziele der Sporenbildung führt, als auf dem weiten und umständlichen Umwege der vorhergehenden Zweitheilung und nachherigen Ausbildung zweier Sporen statt einer.

hüllung mit einer Membran zur Spore sich ausbildet. Die Sporen sind 2—2,5 Mikrom. lang und 1 Mikrom. breit; sie werden nach Auflösung der Mutterzellmembran frei.

Der ganze Vorgang von dem Zeitpunkte an, in welchem die Stäbchen anzuschwellen beginnen, bis zur vollzogenen Sporenentfaltung dauerte in meinen Culturen unter der feuchten Kammer (also bei 30—35° C.) 10—18 Stunden.

Um die Keimung der Sporen zu beobachten, habe ich dieselben feuchten Kammern benutzt, die ich schon oben bei Bacillus subtilis beschrieben habe. Der Versuch wurde in ähnlicher Weise angestellt, doch mit der Modification, dass die Kammer möglichst luftfrei hergestellt und durch guten Wachsverschluss vor Luftzutritt geschützt wurde. Meine ersten Keimungsversuche scheiterten jedoch und zwar, wie ich mich später überzeugte, an dem Umstande, dass ich die Sporen aus ausgegohrenen, also mit Buttersäure überladenen Culturen entnahm, wodurch eine durch den Geruch noch deutlich wahrnehmbare Quantität Buttersäure in die Versuchsflüssigkeit gelangte. Ich suchte nun Sporen frei von Beimengung der Buttersäure zu erlangen und that es auf folgende Weise. Eine in einem zugeschmolzenen Glascylinder frisch angestellte Cultur wurde, sobald sich in derselben angeschwollene Stäbchen in grösserer Menge vorfanden, was schon am dritten Tage geschah, nach Oeffnen des Cylinders mit kohlensaurem Kalk beschickt, um die gebildete Buttersäure zu binden, und dann etliche Stunden stehen gelassen. Sodann wurde ein Theil der Flüssigkeit dieses Cylinders auf ein sorgfältig gereinigtes Uhrglas gegossen, und nach Zudeckung mit einem zweiten Uhrglas in den Wärmekasten gestellt. Diese Operation hatte den Zweck, die Sporenbildung zu beschleunigen; denn, da der Sauerstoff der Luft auf diese Bacterie tödtlich einwirkt, so sucht sich dieselbe vor dessen Einwirkung dadurch zu schützen, dass sie möglichst rasch in einen Zustand übergeht, in welchem sie unempfänglich zu sein scheint. In der That haben fast alle angeschwollene Stäbchen schon nach wenigen Stunden die schönsten Sporen entwickelt, während sämmtliche jüngere, cylindrische Zustände zu Grunde gingen. Die so gewonnenen Sporen wurden zu den Keimungsversuchen verwendet und mit diesen gelang stets das Experiment, wenn nur andere Bedingungen der Keimung (Luftausschluss) erfüllt waren.

Aus mehreren Beobachtungen der Sporenkeimung stelle ich Folgendes zusammen.

In den ersten zwei Stunden nach der Aussaat zeigen die Sporen keine Veränderungen; dann fangen einzelne von ihnen an anzuschwellen und gleichzeitig zu erblassen, bald folgen ihnen andere, bis nach $1^1/_2$—2 Stunden sämmtliche blass geworden und wenigstens um das Doppelte ihres Anfangs-

volumens angeschwollen sind. (Fig. 4 Ac, Bc). Man kann jetzt an ihnen ziemlich deutlich eine derbe, doppelt contourirte Membran (Exosporium) und einen glashellen, körnchenlosen Inhalt unterscheiden. Die Auskeimung erfolgt 2—3 Stunden später. Kurz vor derselben gerathen die Sporen in die hüpfende Bewegung, die ich schon bei der Sporenkeimung des B. subtilis erwähnt habe. Trotzdem kann man sich durch Beobachtung möglichst vieler Fälle ein Urtheil über den Act der Keimung verschaffen. Man sieht nämlich in den Ruhepausen, von welchen die Bewegung unterbrochen wird, an dem einen Ende der Spore die Doppelcontourirung der Membran schwinden, als ob ein kleines Stückchen derselben an dieser Stelle resorbirt wäre; hier tritt auch der Keimschlauch zum Vorschein (Fig. 4Ad, Bd), er fällt demnach mit der Längsachse der Spore zusammen. Während der Keimschlauch an seinem vorderen Ende fortwächst, zieht sich sein hinteres Ende aus der Sporenhaut zurück. Nach etlichen Theilungen setzt sich das junge Stäbchen in Bewegung; ist die Sporenhaut noch nicht abgestossen, so wird sie von ihm nachgeschleppt (Fig. 4. C).

Die Sporenhaut selbst erscheint als eine derbe, in ihrem ganzen Umfange gleich dicke und mit doppelten Umrissen versehene Membran; sie schrumpft nicht zusammen, wie das bei B. subtilis der Fall ist, sie behält die Grösse, welche sie zuvor, nach Anschwellung der Spore, erreicht hatte.

Nachdem ich im Vorigen den normalen Entwickelungsgang des Cl. butyricum dargestellt habe, will ich noch über die mehr zufälligen Abweichungen, die dasselbe in seiner Form darbietet, berichten. Nicht immer sind seine Stäbchen gerade, zuweilen sind sie nach Art der Vibrionen gekrümmt. Die Krümmung kann spontan entstehen, ohne dass man eine bestimmte Ursache anzugeben wüsste, sie kann aber auch durch mechanische Einwirkungen, wie starken Druck, hervorgerufen werden. So haben sämmtliche Stäbchen einer Cultur im zugeschmolzenen Glascylinder, die sich 2 Wochen lang in Gährung befand und später noch 10 Tage ungeöffnet blieb, in Folge des starken Gasdruckes sich vibrionenartig gekrümmt, so, dass ein ihrer Herkunft Unkundiger sie für wirkliche Vibrionen halten würde. Da der Cylinder nach Abbrechen seiner Spitze in Splitter zersprengt und die Flüssigkeit in das umgewickelte Tuch eingesogen wurde, so konnte nicht ermittelt werden, ob die Krümmung nicht etwa bei weiterer Entwickelung der Stäbchen sich ausgeglichen hätte. — Bei den spontan gekrümmten Stäbchon bleibt die Krümmung Zeit ihres Lebens erhalten; die Sporenbildung vollzieht sich in ihnen in derselben Weise, wie bei den geraden Stäbchen (Fig. 2d).

Eine andere Abnormität, die zuweilen anzutreffen ist, besteht darin, dass nicht eine Spore, wie dies gewöhnlich der Fall ist, im Stäbchen producirt

wird, sondern zwei Sporen; dann aber ist das Stäbchen von bedeutender Länge und die Sporen liegen an den entgegengesetzten Polen desselben. (Fig. 2f.) Mehr als zwei Sporen werden in einem Stäbchen nie gebildet[1].

---

Meine Culturen, die zur Erforschung der Fermentwirkungen dieser Bacterie bestimmt waren, wurden theils in zugeschmolzenen Glascylindern, theils in grösseren Glaskolben (3—4 L. Capacität) nach Art der Pasteur'schen Versuche angesetzt. Als Substrat benutzte ich Stärke, gekochte Kartoffelstücke, Samen von Lupinen, der Sonnenrose etc., dann Dextrin und Zuckerlösungen, schliesslich auch die Pasteur'sche Nährlösung vom milchsauren Kalk. Die Culturen in zugeschmolzenen Glascylindern habe ich nach demselben Verfahren hergestellt, wie ich das schon S. 18 bei B. subtilis beschrieben habe, nur wurde das Aufkochen zum zweiten Male nicht immer stricte auf 10 Minuten eingehalten, vielmehr die Cylinder meistentheils schon nach 5 Minuten langem Verweilen im Wasserbade von Neuem zugeschmolzen. Die Versuche in den Glaskolben wurden in der Hauptsache nach der Methode Pasteur's[2] ausgeführt. Die Einrichtung der Glaskolben war folgende. In die obere Mündung des Kolbens wurde ein dicht schliessender und doppelt durchbohrter Kautschukpfropf hineingetrieben und durch diesen zwei Röhren in das Innere des Kolbens hineingeleitet; das eine Rohr war doppelt gebogen und sollte als Ableitungsrohr für die entweichenden Gase dienen; an seinem unteren, freien Ende war ein kurzer Kautschukschlauch angebracht; das andere war ein gewöhnlicher mit einem Hahn und einem Glasstöpsel versehener Scheidetrichter. — Nach Füllung des Kolbens mit der betreffenden Nährflüssigkeit wurde dieselbe eine halbe Stunde lang im Kochen erhalten und nach Zurücktreten der beim Kochen ausgetriebenen Flüssigkeit in den Kolben der Kautschukschlauch des Ableitungsrohres mittelst eines Quetschhahnes abgesperrt. Die Inficirung erfolgte erst nach theilweiser Abkühluug des Kolbens. Zu diesem Zweck

---

[1] Koch hat in seinen photographischen Abbildungen der Bacterien (Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. II. H. 3) mehrere Bacillen zur Anschauung gebracht, die 3—4 Sporen in einem einzelnen Stäbchen entwickeln sollen. Ob dieser Fall bei anderen Bacterien wirklich eintritt, muss ich dahin gestellt sein lassen. Man muss sich jedoch hüten, jedes in einem Bacterienstäbchen auftretende Körnchen von starker Lichtbrechung gleich als Spore aufzufassen, denn dasselbe kann bloss eine zufällige Ansammlung des Bacterienplasmas darstellen, welches, wie ich später zeigen werde, die Eigenschaft besitzt, im verdichteten Zustande die durchfallenden Lichtstrahlen stark zu brechen.

[2] Études sur la bière p. 282 ff.

wurde eine grössere Quantität sporenhaltiger Flüssigkeit in den Trichter gegossen, dann der darunter befindliche Hahn geöffnet und bevor noch die sämmtliche Flüssigkeit in den Kolben eingesogen war, wieder zugedreht. Sodann stellte ich die Versuchskolben in den Wärmekasten, wo sie mit Watte umgewickelt wurden. Das Ableitungsrohr wurde jetzt vermittelst des Kautschukschlauches mit einer doppelt tubulirten Flasche, welche mit Barytwasser gefüllt war, verbunden; von dieser Flasche ging ein zweites ebenfalls doppelt gebogenes Rohr in eine Quecksilberwanne oder in einen darüber befindlichen und mit Quecksilber gefüllten Eudiometer.

In den eben beschriebenen Versuchen, sowohl denjenigen mit zugeschmolzenen Glascylindern, als auch denjenigen mit Glaskolben trat Gährung schon am zweiten, spätestens am dritten Tage ein. Die Glascylinder, in welchen Gährung sich entwickelte, wurden von Zeit zu Zeit geöffnet und die Gährungsflüssigkeit in mehreren Proben mikroskopisch untersucht; öfters aber war mir die Mühe des Oeffnens erspart, da die Cylinder durch den angesammelten Gasdruck (in zwei Fällen schon am dritten Tage nach Anstellung des Versuchs) gesprengt wurden. Aus den Glaskolben wurden Proben zur mikroskopischen Untersuchung in der Weise entnommen, dass das Ableitungsrohr auf 10 Minuten mittelst eines Quetschhahnes abgesperrt wurde, wodurch sich in dieser Zeit im Inneren des Kolbens ein hinreichend starker Druck ansammelte, um nach Oeffnen des Hahns am Trichter eine Portion Gährflüssigkeit in denselben hineinzutreiben. — Schon am dritten Tage der Gährung verbreitete die Gährflüssigkeit einen nicht zu verkennenden Buttersäuregeruch; derselbe verstärkte sich von Tag zu Tag und gleichzeitig mit ihm die saure Reaction der Flüssigkeit bis zum völligen Stillstehen der Gährung. Um jedoch über die Natur der Säure nicht im mindesten Zweifel zu sein, wurde auf meine Bitte von Dr. Degener eine grössere Quantität einer ausgegohrenen Dextrinlösung der chemischen Analyse unterworfen. Die dabei befundene Säure erwies sich als unzweifelhafte Buttersäure (normale) mit allen ihr zukommenden Eigenschaften.[1] Zugleich wurden auch die flüchtigen Produkte der Gährung bestimmt; die Kohlensäure mittelst Absorption in Barytwasser, der im Eudiometer aufgefangene Wasserstoff durch Verpuffen mit einem entsprechenden Volumen Sauerstoff

Die so gewonnenen Thatsachen verbunden mit der Anaërobiosie dieser Bacterie und mit dem mikroskopischen Befund, dass in meinen Gährungen

[1] Da es für meinen Zweck gleichgültig war, zu erfahren, wie viel Buttersäure aus der Dextrinlösung producirt wurde; so wurde die Analyse nicht nach streng quantitativen Methoden durchgeführt, was ich mit Erlaubniss Dr. Degener's an dieser Stelle mittheile.

die nämlichen Spaltpilzformen auftraten, welche Pasteur[1] bei seinen Buttersäuregährungen beobachtet hat, haben mir die Ueberzeugung beigebracht, dass meine Bacterie, nämlich der räthselhafte Amylobacter Trécul's und van Tieghem's nichts Anderes, als das Pasteur'sche Buttersäureferment sein kann, wie ich das schon bei einer früheren Gelegenheit ausgesprochen habe.[2] Gegen diese Annahme konnte auch nicht der Umstand sprechen, dass sich Amylobacter in Jodlösungen violett färbt, was von Pasteur für das Buttersäureferment nicht angegeben wird; denn einerseits konnte Pasteur es unterlassen haben, die Jodreaction bei seinen mikroskopischen Untersuchungen anzuwenden, andererseits aber ist die Eigenschaft des Violettwerdens bei dieser Bacterie keineswegs constant und an die Organisation ihres Plasmas nothwendig gebunden, wie ich das weiter unten noch auseinandersetzen werde.

Neuerdings hat auch van Tieghem, welcher vor noch nicht langer Zeit diese Bacterie als ein spezifisches Ferment der Cellulosezersetzungen und ihre Fermentwirkungen als „besondere und neue" bezeichnet hat,[3] sich veranlasst gefunden, meiner Ansicht beizutreten, indem er in einer an die französische Akademie der Wissenschaften gemachten Mittheilung die Identität des Amylobacter mit dem Pasteur'schen Buttersäureferment zugestanden hat.[4] Dieses Geständniss von Seiten van Tieghem's entledigt mich aber der Pflicht, auf seine Theorien der Cellulosezersetzungen und auf die Rolle, die er dem Amylobacter im Haushalte der Natur spielen lässt, noch einmal zurückzukommen.

Bekanntlich hat Pasteur[5] zuerst bei seinen Untersuchungen über Buttersäuregährungen die für die spätere Entwickelung der Gährungstheorien so wichtige Thatsache festgestellt, dass es Lebewesen gibt, die ohne freien Sauerstoff der Luft existiren können. In Bezug auf das Buttersäureferment hat Pasteur sogar gezeigt, dass der freie, athmosphärische Sauerstoff auf dasselbe als Gift einwirkt; eine aërobie, also auch bei Sauerstoffzutritt lebende Form des Buttersäureferments wurde von Pasteur nicht

---

[1] Die zuerst von Pasteur in Comptes rendus t. LII. u. a. a. O. mitgetheilte Beschreibung des Buttersäureferments ist sehr mangelhaft; er hat dieselbe in seinen späteren Arbeiten (Études sur la bière p. 288 ff.) vervollständigt und auch mit besseren Zeichnungen versehen.

[2] Siehe meinen Aufsatz in der Bot. Ztg. 1879 p. 414 ff.

[3] van Tieghem. Sur la fermentation de la cellulose. Comptes rendus 1879. t. LXXXVIII. p. 205 ff.

[4] van Tieghem. Identité du Bacillus Amylobacter et du Vibrion butyrique de M. Pasteur. Compt. rendus t. LXXXIX. 1879. p. 5 ff.

[5] Pasteur Animalcules infusoires etc. Compt. rendus LII. 1861.

beobachtet. Da jedoch, soviel bis jetzt bekannt ist, alle übrigen Fermente auch dann leben können (sogar recht gut gedeihen), wenn sie sich unter Einfluss der Luft befinden, so konnte ein ähnliches Verhalten auch beim Buttersäureferment vermuthet werden. — Ohne die Möglichkeit eines aërobien Zustandes beim Buttersäureferment läugnen zu wollen, muss ich jedoch gestehen, dass es mir nie gelungen ist, dasselbe bei Luftzutritt rein zu cultiviren. Vielmehr habe ich aus allen meinen Versuchen die Ueberzeugung davongetragen, dass das Buttersäureferment ein vollkommenes Anaërobium ist, dessen sämmtliche Lebensfunktionen nicht nur von der Gegenwart des freien, athmosphärischen Sauerstoffs vollständig unabhängig sind, sondern auch durch grössere Mengen desselben unterdrückt werden. Schon Pasteur hebt hervor, dass die Bewegungen sowie auch die Vermehrung des Ferments in vollständig der Luft beraubten Flüssigkeiten besonders lebhaft vor sich gehen; auch Sporenbildung wurde von ihm in solchen Flüssigkeiten beobachtet.[1] In der That geht die Sporenbildung in lebhaft gährenden Flüssigkeiten, bei denen an ein Eindringen der Luft von Aussen nicht zu denken ist, mit besonderer Energie von Statten. Dass aber auch die Sporenkeimung sich ohne jedwedes Zuthun des Sauerstoffs vollzieht, muss ich nach allen meinen Beobachtungen als höchst wahrscheinlich hinstellen. — Wenn in den oben beschriebenen Versuchen mit zugeschmolzenen Glascylindern die Luft nicht vollständig ausgetrieben wurde, so blieb die Entwickelung des Ferments und in Folge dessen auch die Gährung aus und ich konnte mich nach Oeffnen des Cylinders von der Nichtauskeimung der Sporen überzeugen. Ebenso misslangen alle diejenigen Keimungsversuche bei denen entweder eine kleine Luftblase in der feuchten Kammer eingeschlossen war, oder in Folge langsamer Manipulation beim Abschliessen der Kammer die Nährflüssigkeit sich längere Zeit im Contact mit der athmosphärischen Luft befand. Dagegen konnte ich stets die Sporen zur Auskeimung bringen, wenn ich dieselben gemischt mit Sporen anderer aërobien Bacterien (z. B. denen von B. subtilis) aussäete; dann aber keimten sie erst viel später aus, nachdem sich die anderen Bacterien vermehrt haben. — Aus allen diesen Beobachtungen geht mit grosser Wahrscheinlichkeit hervor, dass der freie, athmosphärische Sauerstoff für den Keimungsprozess der Sporen des Buttersäureferments nicht nur ganz entbehrlich ist, sondern auch, dass derselbe schon in minimalen Mengen die Keimung vollständig unterdrückt. Sollte sich diese Folgerung bewahrheiten, so würden wir in dieser Bacterie ein merkwürdiges und zur Zeit einzig in seiner Art dastehendes Beispiel

[1] Pasteur. Études sur la bière. p. 290—296.

einer vollkommenen Anaërobiosie vor uns haben, welches der ganzen übrigen lebendigen Welt diametral gegenüberstände; denn während alle übrigen Lebewesen zu ihrer vollkommenen Entwickelung des freien Sauerstoffs der Luft nothwendig bedürfen, würde der gänzliche Mangel an Sauerstoff eine conditiosine qua non seiner Existenz sein.

Eine andere biologische Frage, die ich gleich hier erledigen will, ist die nach der Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen die Siedehitze. Ich habe zwar nicht besondere, darauf bezügliche Versuche angestellt, da ich aber bei meinen sämmtlichen Culturen nur Sporen verwendet habe, die nach der Aussaat aufgekocht wurden, so möge es mir vergönnt sein, die hierbei gewonnenen Erfahrungen an dieser Stelle mitzutheilen. — Ein 5 Minuten langes Auskochen halten die Sporen sehr gut aus; aber schon bei 10 Minuten andauerndem Kochen ist das Resultat zweifelhaft; nach 15 Minuten habe ich Keimung derselben nie beobachtet. Somit ist es wahrscheinlich, dass die Widerstandsgrenze für die Sporen des Buttersäureferments weit tiefer liegt, als für B. subtilis, was mit dem Umstande zusammenhängen mag, dass seine Sporenhaut nicht so stark verdickt ist, wie das bei B. subtilis der Fall ist.[1]

Ich komme jetzt auf die schon früher erwähnte, merkwürdige Eigenschaft zu sprechen, welche es bedingt, dass das Buttersäureferment unter gewissen Bedingungen eine in Jod sich blau bis schwarz violett färbende Verbindung[2] im Plasma auftreten lässt, die nach diesem ihrem Verhalten als ein Analogon von Stärke zu deuten ist. Diese Eigenschaft scheint besonders dazu angethan zu sein, um uns einen Einblick sowohl in die physiologischen Verhältnisse der Ernährung des Ferments zu verschaffen, als auch über die dunklen und räthselhaften Beziehungen, welche zwischen dieser Ernährung und den chemischen Spaltungen und Umsetzungen des Substrats bestehen, Licht zu verbreiten. — Was zuerst das Stadium anlangt, in welchem die Blaufärbung der Stäbchen auftritt, so ist hervorzuheben, dass diese sich früher oder später einstellt, je nach der Energie, mit welcher die Gährung vor sich geht. In schwach gährenden, aber stärkereichen Substraten erscheint sie schon in einem sehr frühen Entwickelungsstadium an noch wachsenden und sich theilenden Stäbchen, welche dann in einzelnen Querzonen oder auch in continuo blau werden.[3] Bei starken Gährungs-

[1] Soviel ich weiss, ist die Resistenz der Sporen des Buttersäureferments gegen Siedehitze weder von Pasteur geprüft worden, noch ist dies auch von keiner anderen Seite geschehen.

[2] Junge cylindrische Stäbchen färben sich in Jod rein blau, ältere, angeschwollene dunkel- bis schwarzviolett.

[3] In einem Keimversuche, zu welchen aufgekochte Stärke verwendet wurde, habe ich die Blaufärbung schon etliche Stunden nach der Auskeimung an den jungen Stäbchen in kleineren Querzonen auftreten gesehen.

äusserungen des Ferments tritt sie dagegen auch in reichlich mit Stärke versehenen Substraten in einem verhältnissmässig sehr späten Entwickelungsstadium, erst kurz vor der Fructification, auf; sie kann aber auch unter diesen Umständen vollständig unterbleiben und man beobachtet dann eine Erscheinung, die der Beachtung werth ist: die Gährflüssigkeit wird durch Jod blau gefärbt; sobald aber die Gährung nachlässt, wird die in der Flüssigkeit aufgelöste Stärke nach und nach resorbirt und mit dieser Resorption tritt auch die Blaufärbung des Ferments wieder auf. Wendet man stärkefreie, aber cellulosehaltige Substrate an, so ist die Erscheinung der Blaufärbung minder sicher; in Dextrin- und zuckerhaltigen Nährlösungen habe ich vergebens nach ihr gesucht. Dagegen hat van Tieghem[1] in Zuckerlösungen die Blaufärbung beobachtet, doch fügt er hinzu, dass dieselbe in diesem Medium eine spät eintretende und prekäre ist. Auch führt van Tieghem eine Anzahl von anderen Nährmedien an, wie Glycerin, Mannit, milchsaurer Kalk etc., in welchen das Buttersäureferment die Fähigkeit besitzt, amorphe Stärke in seinem Protoplasma zu produciren. Was den milchsauren Kalk anlangt, so habe ich mich selbst von der Richtigkeit dieser Beobachtung nachträglich überzeugt. Desgleichen hat Fitz[2] in seinen Buttersäuregährungen mit Glycerin, Erythrit einen Schizomyceten beobachtet, der „Birnform oder Citronenform" zeigte und sich mit Jod violett färbte. Nach allen diesen Beobachtungen ist also anzunehmen, dass die Blaufärbung des Buttersäureferments von der Anwesenheit von Stärke oder anderen zunächst verwandten Verbindungen im Nährsubstrat unabhängig ist, wie ich dies Anfangs zu vermuthen geneigt war. Dadurch aber wird mein früherer Ausspruch, dass die violette Färbung des Amylobacter nicht als sein charakteristischstes Merkmal angesprochen werden darf, in keiner Weise alterirt, denn, wie ich das schon oben auseinandergesetzt habe, ist dieselbe sehr schwankend und selbst auf stärkehaltigen Substraten unsicher.

Es entsteht nun die Frage, welche physiologische Bedeutung die Aufspeicherung von Stärke für das Leben und die Fermentwirkungen der Bacterie haben mag? Liefert die producirte Stärke das Material, welches von dem Ferment zur Buttersäure und anderen Producten der Gährung verarbeitet wird, oder wird sie zur Ernährung des Ferments im gewöhnlichen Sinne des Wortes verbraucht? Ich glaube mich für die letztere Alternative aussprechen zu müssen. Denn erstens ist das Auftreten dieser Verbindung nicht constant, was ein nothwendiges Postulat wäre, wenn die erste Annahme richtig sein sollte, da doch wenigstens die Hauptprodukte

[1] van Tieghem. Identité du Bacillus Amylobacter etc. Comptes rendus. t. LXXXIX p. 7.
[2] l. c. p. 1891 u. a. a. O.

der Gährung immer dieselben sind; zweitens aber erscheint die Stärke in eben solchen Gährungen, die lebhaft vor sich gehen, erst kurz vor der Fructification der Stäbchen, also in einem Entwickelungsstadium, in welchem durch die neu eingeleiteten Prozesse die Gährenergie derselben herabgedrückt, vielleicht auch gänzlich vernichtet sein muss. Man kann sogar direct Beweise dafür anbringen, dass die Gährenergie der Stäbchen in ihren jugendlichen Stadien ihren Höhepunkt erreicht und mit dem Zeitpunkt nachlässt, in welchem die Stäbchen sich verdicken und zur Fructification anschicken. Verwendet man nämlich Sporen zur Aussaat und kocht das Substrat auf, so sieht man schon nach 12—15 Stunden stürmische Gährung auftreten, die 3—5 folgende Tage mit gleicher Energie andauert. Nun sind aber in den ersten 24 Stunden nach der Aussaat nur jugendliche, cylindrische Stäbchen in der Cultur anzutreffen; die angeschwollenen kommen erst am dritten Tage zum Vorschein; es musste also bis zu dieser Zeit die Gährung nur durch die ersteren unterhalten werden. Die Sporenbildung schreitet nun einige Tage fort, bis die Anhäufung der Gährprodukte dieselbe ganz unterdrückt; man sieht nach einiger Zeit keine angeschwollenen Stäbchen mehr, wohl aber noch jugendliche, die die Gährung noch eine Zeit lang, wenn auch schwach, im Gang erhalten, bis sie schliesslich absterben. Aus diesen Thatsachen lässt sich aber schliessen, dass die Gährthätigkeit, wenn sie auch nicht den jugendlichen Zuständen des Ferments ausschliesslich zukommt, doch in der Hauptsache von ihnen ausgeht. — Nehmen wir jetzt mit Naegeli[1] an, dass die Gährung auf einer molekularen Bewegung beruht, welche von den Plasmamolekülen des Ferments ausgeht und sich auf die umgebende Flüssigkeit fortpflanzt, so muss natürlich diese Bewegung einen starken Verbrauch von Plasma involviren, wodurch im Augenblick der Fructification die Nothwendigkeit entsteht, dasselbe zu regeneriren und auf das zur Sporenentwickelung erforderliche Maass zu bringen. Es wird demnach in diesem Stadium die Stärke entweder auf dem Wege der Diosmose (bei Anwesenheit von Stärke im Substrat) oder durch andere, unbekannte chemische Kräfte und Prozesse im Plasma angehäuft, um theils zur Reconstitution desselben, theils vielleicht auch direct zur Bildung der Sporenmembran verwendet zu werden. — Die hier vorgetragene Anschauung steht auch im Einklang mit anderen Beobachtungen. Wenn in schwach gährenden, aber stärkereichen Substraten die Stärke schon frühzeitig sich in den Stäbchen ansammelt, so liegt die Vermuthung nahe, dass in diesem Falle in Folge der geschwächten Gährthätigkeit die Ernährung die Ueberhand nimmt. Wenn auf der anderen Seite die Stäbchen in ihrem ganzen Entwickelungslauf zur

[1] Naegeli. Theorie der Gährung. München 1879.

Produktion der Stärke gar nicht gelangen, so mag dies mit dem Umstande zusammenhängen, dass das Plasma für die Sporenbildungsvorgänge in hinreichendem Quantum vorhanden ist und einer Reconstitution nicht bedarf. Jedenfalls weist das Verhalten der nächst folgenden und dem Buttersäureferment sehr nahe stehenden Bacterie, die auch das Vermögen besitzt, Stärke in sich aufzuspeichern, dass die hier vertretene Ansicht von der Bestimmung der Stärke für das Leben des Ferments sehr nahe an die Wahrheit grenzt.

2. Cl. Polymyxa n. sp. (Fig 5—7. Taf. II.). Ich habe schon in meiner früheren Mittheilung[1] über diesen Gegenstand der Vermuthung Raum gegeben, dass diese Bacterie von dem ihr habituell und entwickelungsgeschichtlich sehr nahe stehenden Buttersäureferment spezifisch zu trennen ist. Meine späteren Versuche, die im Besonderen der Erforschung dieser interessanten Bacterie gewidmet waren, haben mir die Ueberzeugung beigebracht, dass beide Bacterien nothwendig auseinandergehalten werden müssen.

Das Cl. Polymyxa stimmt in seiner Grösse, Gestalt und den einzelnen Phasen seiner Entwickelung vollkommen mit der vorigen Art überein. In seiner Jugend stellt es kürzere oder längere, ruhende oder freibewegliche, cylindrische Stäbchen dar; diese verdicken sich mit dem Alter und nehmen die Gestalt einer kurzen Spindel, eines Ellipsoids oder einer Kaulquappe an; in den verdickten Stäbchen entstehen Sporen, die in ihrer Grösse und Gestalt vollständig denen des Buttersäureferments gleichen; auch die Keimung der Sporen vollzieht sich in der nämlichen Weise, indem der Keimschlauch in der Richtung der Längsachse der Spore hervordringt, und die abgestossene Sporenhaut ist von derselben Structur und Beschaffenheit.

Indessen begegnet man bei dieser Bacterie zuweilen Abweichungen von der normalen Gestaltung, wie ich solche bei Cl. butyricum nie beobachtet habe. So findet man öfters, namentlich in üppigen und dem Luftzutritt ausgesetzten Culturen des Cl. Polymyxa zwischen den einfach cylindrischen Stäbchen und Fäden auch eigenthümliche, schlauchartig erweiterte und wellig gebogene Fäden mit hyalinem Inhalt und ohne jedwede Gliederung (Fig. 6; x ist nach einem Exemplar gezeichnet, welches ich bei einem Keimungsversuche in der feuchten Kammer beobachtet habe). Ihr Erscheinen ist um so auffallender, als sie sich in der Regel schon zu einer Zeit einfinden, in der noch alle übrigen Elemente der Cultur sich im lebhaften Wachsthum befinden und einfach cylindrisch sind. Ich habe Anfangs in diesen Gebilden eigenthümliche Reproduktionsorgane vermuthet, überzeugte mich aber, dass dies nicht der Fall ist; vielmehr verhalten sie

[1] l. c. p. 422.

sich in ihrer Weiterentwickelung den normal gestalteten Fäden ähnlich; sie zerfallen in kürzere Glieder, in denen dann Sporen sich ausbilden.[1]

Eine andere Formabweichung, die eine scheinbare Stütze für die Möglichkeit einer Metamorphose der höher entwickelten Schizomyceten in die niedriger organisirten der Gattung Micrococcus und Bacterium abzugeben scheint, habe ich ein einziges Mal in einer Cultur beobachtet, die nachdem sie reichlich Sporen gebildet hat, aus dem Wärmekasten herausgenommen und auf einen Reagensständer gebracht wurde, wo sie 3 Wochen lang in gewöhnlicher Zimmertemperatur blieb. Als ich nach dieser Zeit die Cultur mikroskopisch untersuchte, fanden sich in derselben zwischen den charakteristischen Spindelstäbchen auch kürzere und längere Ketten von ovalen bis fast kugeligen Zellen, die an ihrer Verbindungsstelle entweder deutlich durch eine Querwand geschieden waren, oder noch häufiger bloss eine starke Einschnürung zeigten (Fig. 7.) Die einzelnen Kügelchen waren von 1,4—2 Mikrom. im Durchmesser und ähnelten um so mehr einem grossen Micrococus, als der Inhalt stark lichtbrechend war; indess waren mehrere von ihnen nur an der Peripherie stark lichtbrechend und zeigten gegen die Mitte eine minder brechbare Stelle, als wenn sich hier eine Vacuole ausgeschieden hätte. Dass diese Torulaketten dem Cl. Polymyxa angehörten, konnte nicht bezweifelt werden, denn mit ihnen gemengt waren in hinreichender Anzahl auch solche Ketten vorhanden, die nur in einzelnen Gliedern die Kugelform angenommen haben, während die Mehrzahl der Glieder aus cylindrischen oder spindelförmigen Stäbchen bestand (Fig. 7b.) — Trotzdem glaube ich nicht, dass wir in diesem Falle eine wirkliche Metamorphose des Cl. Polymyxa in Micrococcus vor uns haben, vielmehr bin ich geneigt, diese Torulaketten als eine eigenthümliche Zersetzungsform, die nicht weiter entwickelungsfähig ist, aufzufassen, wofür auch der Umstand spricht, dass mehrere von ihnen verschrumpft und anscheinend verkümmert waren. Leider konnte ihre Weiterzucht, die allein hier entscheidend wäre, in der feuchten Kammer nicht vorgenommen werden, da die Cultur, in der sie sich eingefunden haben, mit anderen Bacterien verunreinigt war.

Wenn nun, abgesehen von diesen Abnormitäten in der Gestaltung Cl. Polymyxa morphologisch und entwickelungsgeschichtlich mit Cl. butyrium vollständig übereinstimmt, so ist dies nicht mehr der Fall, sobald wir seine Biologie und Fermentwirkungen in's Auge fassen. Wir haben bei Cl. butyricum gesehen, dass dasselbe ein vollkommenes Anaërobium ist,

---

[1] Aehnliche aufgeblähte Fäden hat auch Hansen bei Mycoderma aceti und einer neuen, von ihm als M. Pasteurianum benannten Art beobachtet. (l. c. p. 96 Fig. 64, Taf. II.)

welches seinen ganzen Entwickelungslauf ohne jedwedes Zuthun des freien Sauerstoffs der Luft abzuschliessen vermag, auf welches sogar der Sauerstoff als Gift tödtend einwirkt. Dem entgegen braucht Cl. Polymyxa zu seiner vollständigen Entwickelung, namentlich aber zur Sporenbildung, sowie Sporenkeimung, nothwendig des freien Sauerstoffs der Luft und kann auch bei ungehindertem Luftzutritt im Zustande der vollkommensten Reinheit cultivirt werden. — Setzt man eine Cultur des Cl. Polymyxa in gewöhnlichen Reagenscylindern mit Watteverschluss an, also unter Umständen, die den Sauerstoffzutritt gewähren, so vermehrt sich dasselbe rasch und entwickelt in kurzer Zeit eine überaus üppige Vegetation, die sich nach und nach auf der Oberfläche der Flüssigkeit ansammelt und hier eine zähe, gelblich weisse, zuweilen bis 1 cm. dicke Schleimdecke bildet; dabei findet aber keine auffallende Fermentation statt; nur spärliche Gasblasen werden am Boden des Cylinders entwickelt, augenscheinlich zu dem Zweck, um die hier befindlichen Schleimcolonièn nach oben zu befördern. Untersucht man die Cultur mikroskopisch in mehreren Proben, die von verschiedenen Tiefen entnommen wurden, so überzeugt man sich, dass die Sporenbildung ausschliesslich auf der Oberfläche der Flüssigkeit stattfindet. Zu erwähnen wäre noch, dass sämmtliche fructificirende Stäbchen unbeweglich sind, was auch ein unterscheidendes Merkmal gegenüber dem Buttersäureferment abgibt, dessen Stäbchen fast bis zur Fertigbildung der Spore ihre Beweglichkeit beibehalten können.

Wird dagegen diese Bacterie bei Luftabschluss cultivirt, so ist ihre Vermehrung um so geringer, je weniger Sauerstoff zu ihrer Disposition steht. Folgender Versuch scheint mir in dieser Hinsicht entscheidend zu sein. Zwei Glaskolben in derselben Weise hergerichtet, wie ich das schon oben (S. 30) bei meinem Gährversuchen mit dem Buttersäureferment beschrieben habe, wurden mit Dextrinlösung bis auf den Hals gefüllt und nach halbstündigem Aufkochen mit Sporen infizirt. Nachdem beide in den Wärmekasten gebracht wurden, wurde an dem einen Glaskolben die obere Oeffnung des Trichters mit Watte verstopft und hierauf der unten befindliche Hahn geöffnet, wodurch das Innere des Kolbens mit der äusseren Luft in Communication gesetzt wurde; der andere Glaskolben war nur auf kurze Zeit geöffnet, dann aber blieb er geschlossen. In dem ersten Glaskolben hat sich die Dextrinlösung schon am dritten Tage stark getrübt und als der Hahn wieder zugedreht wurde, trat eine energische Gährung ein; in dem zweiten ist die Dextrinlösung 8 Tage lang fast unverändert und klar geblieben, trotzdem, dass auch hier eine kleine Quantität Luft mit eingeschlossen war. Nach 8 Tagen wurde auch an diesem Glaskolben der Hahn

aufgedreht und nun hat sich auch hier das Ferment vermehrt, wenngleich minder ergiebig, als in dem erstgenannten Versuchskolben.

Dieser Versuch beweist uns, dass die Vermehrung des Cl. Polymyxa direct vom Sauerstoff der Luft beeinflusst wird, mit anderen Worten, dass sie überhaupt ohne Sauerstoff nicht stattfinden kann; er belehrt uns aber zugleich, dass, wenn sich das Ferment einmal vermehrt hat und nun der Sauerstoffzutritt abgeschnitten wird, dasselbe Gährungswirkungen äussert. Beide Folgerungen wurden durch andere parallele Versuche (mit zugeschmolzenen Glascylindern) bestätigt.

Die Versuche mit Hülfe von zugeschmolzenen Glascylindern haben mir Gelegenheit gegeben, auch eine andere Eigenthümlichkeit dieser Bacterie kennen zu lernen, durch welche sie sich von dem Buttersäureferment unterscheidet. In solchen zugeschmolzenen Cylindern, die aber mit Lufteinschluss präparirt werden müssen, sieht man zuweilen schon am zweiten, öfters aber erst am dritten Tage Gährung eintreten; dieselbe dauert 2, höchstens 3 Tage und hält dann still. Wird jetzt die Spitze des Cylinders abgebrochen (beim Oeffnen des Cylinders lässt sich ein Knall vernehmen, der aber nie so stark ist, wie bei den Gährungen des Buttersäureferments, und ein Theil der Flüssigkeit wird durch das entströmende Gas zur Mündung hinausgeworfen) und der Cylinder nach Verstopfen der Oeffnuog mit Baumwolle in den Wärmekasten gebracht, so belebt sich bald die Gährung und kann noch wochenlang andauern, wird aber wieder in 1—2 Tagen aufgehalten, sobald die Spitze des Cylinders von Neuem zugeschmolzen wird. Dieses Experiment kann 3—4 mal wiederholt werden (wenn nur die Spitze des Cylinders lang genug ist) und stets mit demselben Resultat. Daraus geht aber hervor, dass der im Cylinder angesammelte Gasdruck, wie schwach er auch ist, die Gährwirkungen des Ferments sistirt. In der That überzeugt man sich bei mikroskopischer Untersuchung solcher zum Stillstand gekommener Gährungen, dass das Ferment geschwächt ist, indem seine Stäbchen sämmtlich ihre Beweglichkeit eingebüsst haben und ein grosser Theil derselben sichtlich desorganisirt ist, was sich durch Auftreten von kleinen Tröpfchen im Inhalte der Stäbchen und durch Undeutlichwerden ihrer Begrenzung kundgibt. — Diese Empfindlichkeit gegen höheren Gasdruck ist aber eine Eigenschaft, welche diese Bacterie dem Buttersäureferment gerade gegenüberstellt; denn gerade das Buttersäureferment ist eine Bacterie, welche in ganz überraschender Weise einen sehr hohen Druck ohne irgend welchen Schaden ertragen kann; selbst in dem oben (S. 29.) erwähnten Cylinder, welcher zwei Wochen lang sich in Gährung befand und beim Oeffnen in Hunderte von Splittern gesprengt wurde, waren die vibrionenartig ge-

krümmten Stäbchen des Buttersäureferments noch sämmtliche lebenskräftig und mit normalem, vollständig unangegriffenem Inhalt.

In den gährenden Flüssigkeiten, so lange dieselben vor Luftzutritt geschützt sind, kommt Cl. Polymyxa nie zur Sporenbildung, ja nicht einmal zur Verdickung der Stäbchen; vielmehr bleiben diese unter diesen Bedingungen ihr Leben lang einfach cylindrisch und gähren sich schliesslich zu Tode. Dies war leicht festzustellen bei den Versuchen in den Glaskolben, in welchen das Gas durch das Ableitungsrohr abgeführt und so der schädliche Einfluss eines höheren Gasdruckes auf das Ferment beseitigt wurde. Wo der Luftzutritt, wenn auch in geringen Mengen ermöglicht war, wie bei den erwähnten Glascylindern mit abgebrochener Spitze, da hat sich stets auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine Schleimhaut gebildet und in dieser trat auch Sporenbildung ein. Aus dem Allen geht mit Gewissheit hervor, dass diese Bacterie zur Ausbildung der Sporen des freien Sauerstoffs der Luft nothwendig erheischt. Dass auch die Sporenkeimung nur bei ungehindertem Luftzutritt stattfindet, habe ich mich durch Keimungsversuche in der feuchten Kammer überzeugt.

Fassen wir jetzt die Gesammtheit der biologischen Erscheinungen, welche uns Cl. Polymyxa darbietet, zusammen. Wir haben gesehen, dass diese Bacterie sich in den der Luft ausgesetzten Culturen besonders üppig entwickelt, dabei aber keine auffallenden Fermentwirkungen äussert; wir haben weiter festgestellt, dass ihre Reproduktion durch Sporen nur auf der Oberfläche der Flüssigkeit unter directem Einfluss der Luft stattfindet (soweit nämlich der Sauerstoff sich nicht in der Flüssigkeit in Lösung befindet), und schliesslich gezeigt, dass sie nur dann Gährungen verursacht, wenn ihr der Sauerstoff zum Abschluss ihrer Entwickelung mangelt. Aus dem Allen geht aber mit Evidenz hervor, dass Cl. Polymyxa kein unbedingtes Ferment darstellt, als welches wir zur Zeit blos das Buttersäureferment kennen, dessen aërobie Form uns gänzlich unbekannt ist, sondern, dass dasselbe bald ein Gährungserreger ist, bald nicht, je nachdem es in sauerstoffhaltigen oder sauerstofffreien Medien lebt. Man kann deshalb in Bezug auf die Gährungserscheinungen dieser Bacterie dasselbe sagen, was Brefeld[1] in Bezug auf diejenigen der Mucorhefe in folgenden Worten zum Ausdruck brachte: „Sie fällt (die Erscheinung der Gährung) in die Kategorie der blossen Anpassungserscheinungen, „durch die es hier den Pilzen möglich wird, dann, wenn sie den freien in „der Flüssigkeit gelösten Sauerstoff verzehrt haben, an die Oberfläche der„selben wieder zu ihm zu gelangen, um dort ihren Lebensabschluss zu „vollziehen und mit Hülfe des freien Sauerstoffs fructificiren zu können."

[1] Brefeld. Untersuchungen über Alkoholgährung II. Verhandlung der Würzburger physikalisch. mediz. Gesellsch. 1874.

Die Gährungsprodukte des Cl. Polymyxa müssen noch näher untersucht werden. Soviel konnte ich mit Gewissheit feststellen, dass sich bei seinen Gährungen nur Kohlensäure und kein Wasserstoff entbindet. Die ausgegohrenen Flüssigkeiten zeigen einen eigenthümlichen, nicht unangenehmen Geruch, der noch am meisten an verbranntes Dextrin erinnert, und eine saure Reaction.

Die Energie der Gährung scheint von der Beschaffenheit des Substrats abhängig zu sein. In Dextrinlösungen verläuft die Gährung ziemlich schwach, viel lebhafter, zuweilen sogar stürmisch in Aufgüssen von gekochten Kartoffelstücken oder Lupinensamen. Stärke und Cellulose werden stark von dieser Bacterie angegriffen. In Kartoffelaufgüssen habe ich auch bei dieser Bacterie, wiewohl äusserst selten, die violette Färbung ihrer Stäbchen mit Jod hervorrufen können: indess tritt die Färbung nur in den angeschwollenen Stäbchen kurz vor der Fructification, nie aber in jugendlichen Stadien auf; sie ist auch nie so intensiv, wie bei Cl. butyrium. Wenn ich aber zu einer Kartoffelcultur gelöste Stärke[1] oder Amylodextrin in Ueberschuss hinzufügte oder auch mit diesen Substanzen besondere Culturen anstellte, so trat die violette Färbung in den fructificirenden Stäbchen sicher ein. Dies beweist, dass die Stärkeaufspeicherung bei dieser Bacterie von der Anwesenheit der Stärke im Substrat direct abhängig ist und auf diosmotischem Wege erfolgen muss. In allen übrigen, stärkefreien Substraten bleibt die violette Färbung der Stäbchen in Jod stets aus.

---

## Gattung **Vibrio** Cohn.

V. Rugula Müller. (Fig. 8—11. Taf. I.). Diese Bacterie habe ich blos in Culturen beobachtet, die mit anderen Bacterien verunreinigt waren; meine Versuche, Reinculturen von derselben zu erlangen, scheiterten. Da sie jedoch in einigen von den Culturen in überwiegender Menge aufgetreten ist und wegen der charakteristischen Krümmung ihrer Stäbchen leicht von anderen Bacterien zu unterscheiden war, so konnte ihre Entwickelungsgeschichte mit einiger Sicherheit verfolgt werden.

---

[1] Gelöste Stärke habe ich mir dadurch verschafft, dass ich eine grössere Quantität Kartoffelstärke in einer Porzellanschale mit destillirtem Wasser zerrieb und dann die Flüssigkeit abfiltrirte.

V. Rugula stellt in seiner Jugend etwa 8 Mikrom. lange und äusserst dünne Stäbchen dar, die eine constante Krümmung nach der einen Seite hin zeigen (Fig. 8 a). Die Stäbchen kommen entweder als Einzelstäbchen oder auch zu längeren Ketten verbunden vor (Fig. 8 b). Wenn an letzteren die Querwände unsichtbar sind, so ist diese Art von V. serpens gar nicht zu unterscheiden und es kann möglich sein, dass V. serpens, welcher nach Cohn sich nur durch zahlreichere Wellenbiegungen von V. Rugula unterscheidet, blos eine Habitusform dieser letzteren Art ist.[1] Die Bewegungen der Einzelstäbchen sind rasch, lebhaft, aalartig, die der Stäbchenketten viel langsamer. — In einem späteren Entwickelungsstadium sieht man die Stäbchen sich gleichmässig in ihrer ganzen Länge verdicken; zugleich treten im Inhalte, wenn auch nicht immer ganz feine Granulationen auf (Fig. 9). Nach einiger Zeit tritt an dem einen Ende des verdickten Stäbchens eine kugelige Anschwellung zum Vorschein; das Stäbchen sieht dann einem Komma ähnlich (Fig. 10). In der kugeligen Endanschwellung sammelt sich nach und nach der gesammte Inhalt des Stäbchens und gestaltet sich schliesslich zu einer ebenfalls kugeligen Spore. (Fig. 11).

Soweit ist es mir gelungen die Entwickelungsgeschichte von V. Rugula zu erschliessen. Zu erwähnen hätte ich noch, dass die Erscheinungen der Sporenkeimung von V. Rugula dieselben sein müssen, wie wir sie bei der Gattung Bacillus und Clostridium kennen gelernt haben; denn als ich Sporen dieser Bacterie, die sich in einer von meinen Culturen besonders massenhaft entwickelt haben, unter die feuchte Kammer brachte, so schwollen dieselben nach einiger Zeit an und erblassten; indess ist es zur wirklichen Auskeimung nicht gekommen.

Cohn gibt über die Biologie oder irgend welche Fermentwirkungen dieser Bacterie nichts an. Ich vermuthe, dass wenigstens die von mir beobachtete Form des V. Rugula ein Anaërobium sei und ich schöpfe diesen Verdacht sowohl aus denjenigen von meinen Versuchen, die die Erlangung einer Reincultur von dieser Bacterie bezweckten, als auch aus dem Umstande, dass sie in meinen ersten Culturen des Buttersäureferments in Gemeinschaft mit diesem lebte und dabei sich sichtlich wohl befand; denn ihre Stäbchen schwärmten lebhaft herum und eine Anzahl derselben war sogar in Sporenbildung begriffen. Auch habe ich mich überzeugt, dass die

---

[1] van Tieghem berichtet in seiner neuesten Publication (Comptes rendus t. LXXXIX p. 7.) dass er zu Anfang d. v. J. in den Sitzungen der franz. botan. Gesellsch. Mittheilungen über die Entwickelungsgeschichte einiger Bacterien, — darunter auch V. serpens, gemacht hat. Leider konnte ich diese Arbeiten nicht benutzen, da die Bulletins dieser Gesellschaft noch bis zu Ende Januar d. J. nicht im Buchhandel erschienen sind.

Sporenbildung bei dieser Bacterie in den vor Luftzutritt nicht geschützten Culturen nur in der Tiefe der Nährlösungen vor sich geht.

Cellulose wird von dieser Bacterie energisch zersetzt. In Aufgüssen, zu denen pflanzliche Gewebe (Kartoffelstücke, Wurzelstücke von Inula Helenium) verwendet wurden, konnte ich beobachten, wie die Stäbchen des V. Rugula die Zellwandungen der Gewebe umlagerten und wie schliesslich diese sich in kurzer Zeit (3—4 Tagen) in Schwärme von V. Rugula auflösten. Welcher Art die Fermentwirkungen dieses Bacterie sein mögen, bin ich jedoch ausser Stande anzugeben. Soviel habe ich gefunden, dass die Flüssigkeiten, in welchen sich V. Rugula massenhaft entwickelt hat, eine alkalische Reaction zeigen; ich muss aber dahingestellt sein lassen, ob diese Reaction ausschliesslich auf Rechnung von V. Rugula zu ziehen ist oder, ob auch andere zusammenlebende Bacterien sich an der Erzeugung der alkalischen Produkte betheiligt haben.

---

# B. Allgemeines.

## Zooglaeenbildung.

Die Frage nach der Entstehungsweise der Zooglaeen oder Schleimcolonien von Bacterien ist bis jetzt noch nicht wissenschaftlich erwogen worden. Die geläufige, wenn auch nicht immer deutlich zum Ausdruck gebrachte Vorstellung war die, dass die vorhin frei herumschwärmenden Bacterienstäbchen sich unter bestimmten Bedingungen an gewissen Stellen, namentlich aber an der Oberfläche von Infusionen, in denen sie leben, ansammeln und, indem sie ihre Beweglichkeit einbüssen und gleichzeitig Schleim aussondern, zu grösseren Schleimmassen verschmelzen. Diese Vorstellung ist, soweit sie uns die Art und Weise des Entstehens von Zooglaeen erklären soll, eine entschieden irrige.

Vielmehr erinnern die Vorgänge bei der Zooglaeenbildung der Bacterien lebhaft an diejenigen Erscheinungen, die wir bei der Bildung von Gallertfamilien der zunächst verwandten Algengattungen aus der Gruppe der Pallmellaceen und Chroococcaceen beobachten. Bekanntlich entstehen bei denjenigen Gattungen dieser Algen, die eine zähe und nach Aussen scharf abgegrenzte Gallerthülle besitzen (Gloeocapsa, Gloeo-

thece), die Gallertfamilien in der Weise, dass sich eine einzelne Zelle in zwei Tochterzellen theilt, von denen jede für sich eine besondere Gallerthülle erzeugt und die in der Hülle der Mutterzelle eingeschlossen bleiben. Dieser Vorgang wiederholt sich in den folgenden Generationen, bis schliesslich eine Zellenfamilie hervorgeht, die nach Aussen hin von der gallertartigen Blase der Urmutterzelle umkleidet wird, in der die Zellen der jüngeren Generationen in besonderen Blasen eingeschachtelt liegen. Dagegen wird von denjenigen Gallertfamilien (z. B. der Gattung Aphanothece), die blos in structurlosen Gallertlagern beobachtet werden, angenommen, dass dieselben aus einer beliebigen Anzahl von Individuen hervorgehen können. Indess hebt schon Naegeli[1] hervor, dass eine scharfe Grenze zwischen beiden Formen von Gallertfamilien nicht zu ziehen ist, da sich Uebergänge von der einen zur anderen Form auffinden lassen, weshalb sie auch in ihrer morphologischen Bedeutung einander gleichkommen müssen.

Ich habe zwar keine Erfahrungen darüber, auf welche Weise die structurlosen Gallertfamilien der niederen Algen zu Stande kommen und, ob dieselben blos Conglomerate von einer beliebigen Anzahl der Abstammung nach einander fremden Zellen darstellen? Doch glaube ich nach meinen Beobachtungen an Bacterien, die auch zu structurlosen Gallertcolonien auswachsen, schliessen zu dürfen, dass sie in den meisten Fällen ihre Entstehung denselben Prozessen verdanken mögen, wie die scharf begrenzten Gallertfamilien der Gattung Gloeocapsa u. A.

Was nun die Bacterien anlangt, so glaube ich annehmen zu müssen, dass die äusseren Schichten ihrer Membran, wenigstens bei den Zooglaeen bildenden Arten, zu einer Gallerthülle gequollen sind. Die Gallerthülle kann stärker oder schwächer entwickelt sein, je nachdem es die äusseren Umstände mit sich bringen. Zu denjenigen Bedingungen, welche die Bildung einer reichhaltigen Gallerte besonders begünstigen, scheinen vor Allem hinreichende Sauerstoffzufuhr und eine an Kohlenstoff-hydraten reiche Nahrung zu gehören. — Es ist allgemein bekannt, dass die Schleimmassen der Bacterien sich besonders üppig an der Oberfläche der Flüssigkeiten, also unter dem directen Einfluss des Sauertsoffs, entwickeln. In welcher Weise der Sauerstoff die Schleimbildung begünstigt, bleibt jedoch ein Räthsel. Es ist möglich, dass seine Einwirkung blos darauf zurückzuführen ist, dass derselbe die Bewegungen der Bacterien hemmt (auf der Oberfläche der Flüssigkeiten sind die Bacterien in der Regel unbeweglich), wodurch die Gallerthülle der letzteren sich nicht nur erhalten, sondern auch durch immer neues Aufquellen der inneren Schichten der Membran

[1] Naegeli. Gattungen einzelliger Algen. p. 29.

verstärken kann, während sie im beweglichen Zustande wegen ihrer zarten und weichen Beschaffenheit durch Reibung an die umgebende Flüssigkeit abgestreift wird. — Was die Kohlenhydrate anlangt, so hat schon Billroth[1] die Erfahrung gemacht, dass in zuckerhaltigen Infusionen die Schleimhäute der Bacterien sich viel reichlicher entwickeln, als auf anderen Substraten. In meinen eigenen Bacterienculturen mit Dextrin und Zuckerlösungen, sowie auch in denjenigen mit Stärke und gekochten Kartoffelstücken habe ich immer reichliche Schleimbildungen beobachtet, während in Aufgüssen von gekochtem Hühnereiweiss die Schleimaussonderung selbst bei denjenigen Arten, die sonst mächtige Schleimdecken bilden, wie B. subtilis oder Cl. Polymyxa, die Schleimaussonderung eine äusserst prekäre war. Der Antheil, welchen die Kohlenhydrate an der Bildung der Gallerthülle der Bacterien haben, ist vielleicht der, dass sie direct das Material zur Ausbildung der Gallertmembran liefern.

Wie dem auch sein mag, die Gallerthülle der Bacterienstäbchen wird wohl nie gänzlich fehlen. Freilich lässt sich diese direct nicht sehen. Aber auch die Gallerte der Zooglaeencolonien kann unter dem Mikroskop nicht gesehen werden und trotzdem zweifeln wir hier keinen Augenblick, dass sie es ist, welche die Stäbchen zusammenhält und zur Colonie vereinigt. Ihre Unsichtbarkeit beweist nur, dass sie sehr dünn und weich sein muss, weshalb sie auch ein Lichtbrechungsvermögen hat, welches dem der umgebenden Flüssigkeit gleichkommt. Wendet man aber färbende Mittel, wie Anilinblau und Anilinroth, an, so lagert sich der Farbstoff in der Gallerte ein und diese hebt sich dann als eine blaue oder rothe Wolke von der umgebenden Flüssigkeit ab. Doch ist es mir nicht gelungen, mit diesen Färbemitteln auch an einzelnen Stäbchen die Gallerthülle sichtbar zu machen; indess weisen die Erscheinungen beim Zerfallen längerer Stäbchenketten und Auseinanderweichen der einzelnen Glieder, wie ich solche auf S. 14 bei B. subtilis beschrieben habe, und wie sie auch bei anderen Bacterien zu beobachten sind, auf das Vorhandensein einer Gallerthülle selbst bei ganz jungen, nicht lange zuvor ausgekeimten Stäbchen.

Halten wir nun an der Anschauung fest, dass die Bacterienstäbchen nicht nur in Zooglaeen, sondern auch im freien beweglichen Zustande von einer Gallerthülle umkleidet sind, so lassen sich die Vorgänge bei der Zooglaeenbildung sehr leicht begreifen. Man sieht nämlich, dass ein einzelnes Stäbchen sich zu einer beliebigen Zeit und an einem beliebigen Orte zur Ruhe setzt, und indem es sich weiter theilt und die erzeugten

[1] Billroth. Untersuchungen über die Vegetationsformen der Coccobacteria septica. Berlin 1879. p. 9.

Stäbchengenerationen mit einander in Zusammenhang verbleiben, eine Zooglaea oder Schleimcolonie gründet. Von der Art und Weise, wie sich dabei die producirten Tochterstäbchen verhalten, ob sie namentlich zu längeren Scheinfäden auswachsen oder gleich nach ihrer Entstehung zerfallen und auseinanderrücken, hängen die schliesslichen Gestaltungen ab, welche die Zooglaeen zeigen, und welche bei den von mir untersuchten Gattungen Bacillus und Clostridium verschieden sind.

Fassen wir zuerst die Gattung Clostridium in's Auge, bei der die Verhältnisse der Zooglaeenbildung viel einfacher zum Ausdruck kommen und sich eng an diejenigen anschliessen, die bei der Entstehung von Gallertfamilien der nur in einer Richtung sich theilenden Algengattungen (z. B. Gloeothece) beobachtet werden. In Fig. 5a, Taf. II sehen wir zwei Stäbchen, die eben aus der Zweitheilung eines Stäbchens hervorgegangen sind; sie sind auseinandergefallen und haben sich derart verschoben, dass sie nicht hintereinander, sondern nebeneinander, doch nicht parallel, zu liegen kommen. Nach etwa $^3/_4$ Stunden theilen sich die beiden Stäbchen, nachdem sie das doppelte ihrer Länge erreicht haben, von Neuem; die entstandenen Tochterstäbchen rücken alsbald auseinander, wobei sie sich verschieden gruppiren (Fig. 5b.) Da sie hierbei keine spontanen Bewegungen ausführen, vielmehr sich ganz allmälig von einander entfernen, so lässt sich ihr Auseinanderweichen nur durch die Annahme erklären, dass jedes Stäbchen für sich gleich nach seinem Entstehen eine besondere Gallerthülle ausbildet, durch die sie auseinandergeschoben werden. Die Vorgänge der Theilung, Zerfallens und Auseinanderweichens der Stäbchen wiederholen sich in jeder folgenden Generation, wodurch nach einiger Zeit eine grössere Colonie entsteht, in der die einzelnen Stäbchen ganz unregelmässig neben und über einander gelagert sind (Fig. 5 c. d.) Sobald die Theilungen aufhören, behält die Colonie ihre definitive Grösse und die Stäbchen schicken sich zu Sporenbildung an. (Fig. 5e.)

Bei der Gattung Bacillus weichen die Erscheinungen bei der Zooglaeenbildung von den eben beschriebenen insoweit ab, als die Stäbchengenerationen nicht gleich nach ihrer Erzeugung auseinanderfallen, vielmehr die Neigung zeigen, zu längeren Scheinfäden auszuwachsen. Das Stäbchen wächst in der Regel zuerst in einen längeren Scheinfaden aus (Fig. 3a, Taf. I). Dieser knickt an einzelnen Stellen um und zerfällt in kleinere Fadentheile, die sich entweder parallel aneinanderlegen oder auch ohne irgend welche Regelmässigkeit neben einander gruppiren. Dann wachsen die einzelnen Fadentheile wieder zu längeren Scheinfäden aus, die vom Neuen in kürzere Stücke zerfallen können. (Fig. 3b, c.) Je älter aber die Colonie wird, desto seltener erfolgt das Umknicken und Zerfallen der

Scheinfäden. Dadurch kommt es aber, dass wir in älteren Colonien besonders lange Scheinfäden vorfinden, die entweder durch paralleles Aneinanderreihen zu geraden Bündeln vereinigt sind, oder auch knäuelartig in und durch einander gewunden ein Filzgeflechte von Fäden darstellen.

Die Vorgänge der Zooglaeenbildung, wie ich sie eben beschrieben habe, beweisen uns also, dass die Zooglaeen der Bacterien sich morphologisch von den Gallertfamilien der niederen Algen nicht unterscheiden. Da jedoch die Zooglaeen der Bacterien wegen der Dünnheit der Gallerte nicht nach Aussen sichtbar begrenzt sind, so ist es begreiflich, dass nicht jede Zooglaea, die uns als solche entgegentritt, blos aus Stäbchen einer und derselben Abstammung hervorgegangen sein muss. Denn, wenn zwei oder mehrere Zooglaeen dicht neben einander wachsen, so können sie schon in einem sehr frühzeitigen Stadium zu einer grösseren Colonie verschmelzen, in der die Grenzen der Einzelcolonien nicht mehr unterschieden werden können. Diese Verschmelzung findet in noch grösserem Maassstabe statt, wenn die in der Tiefe vegetirenden Colonien auf die Oberfläche der Flüssigkeit gehoben werden, wo sie sich zu einer compacten und durchaus conformen Schleimmasse vereinigen.

## Anatomie der Sporen.

Ueber den anatomischen Bau der Bacteriensporen herrschen zur Zeit Meinungsverschiedenheiten, die sich sowohl auf die Organisation des Inhalts, als auch auf die Beschaffenheit der äusseren Umhüllung beziehen.

Wir haben gesehen, dass sämmtliche Bacteriensporen, wie verschieden sie auch in ihrer Grösse und Gestalt sein mögen, dieselben Verhältnisse sowohl in Bezug auf den Inhalt, als auch auf die Umhüllung zeigen. Ihr Inhalt zeichnet sich stets durch starke Lichtbrechung aus und ist von einer Membran eingeschlossen, die sich durch scharfe, dunkle Contouren bemerkbar macht; auf diese folgt nach Aussen ein heller, röthlich schimmernder Lichthof.

Fassen wir zuerst die Organisation des Inhalts in's Auge. Nach Cohn[1] sollen die Sporen ihren starken Lichtglanz dem Fettreichthum des Inhalts verdanken. Dieser Ansicht hat schon Brefeld[2] widersprochen; er zeigte, dass die Sporen selbst nach wochenlanger Behandlung mit und Aufkochen in Aether ihren Lichtglanz nicht verlieren: doch spricht sich Brefeld nicht näher über die Natur dieses Inhalts aus.

---

[1] Cohn. Beitr. z. Biol. der Pfl. Bd. II. H. 2 p. 264.

[2] Bot. Ztg. 1877. p. 518—519.

Meiner Ansicht nach ist der stark lichtbrechende Inhalt der Bacteriensporen nichts weiter, als das verdichtete Plasma der Stäbchen, in denen die Sporen entstanden sind. Verfolgt man nämlich den Act der Sporenbildung direct unter dem Mikroskop, so sieht man, dass in dem Maasse, wie sich der plasmatische Inhalt des Stäbchens an eine Stelle zurückzieht, diese Stelle ein immer stärkeres Lichtbrechungsvermögen erhält. Andererseits sehen wir bei der Sporenkeimung, dass mit der Anschwellung der Spore und der gleichzeitig stattfindenden Imbibition des Inhalts, dieser seinen Lichtglanz verliert und dieselbe Beschaffenheit annimmt, welche auch am Inhalte der vegetativen Zustände der Bacterien zu beobachten ist.

Indessen könnte der Einwand erhoben werden, dass bei der Sporenbildung das Plasma eine chemische Umwandlung erfährt, welche eben die starke Lichtbrechung desselben bedingt, und dass bei der Sporenkeimung eine ähnliche Umwandlung, aber im retroversen Sinne, stattfindet. Es ist aber leicht den Beweis zu liefern, dass dies nicht der Fall sein kann. Schon Pasteur[1] hat die Beobachtung gemacht, dass, wenn eine aus zwei oder mehreren Gliedern bestehende Stäbchenkette sich so stellt, dass das eine Endglied mit seiner Längsachse senkrecht auf die Ebene des Gesichtsfeldes zu stehen kommt, während die übrigen in dieser Ebene projicirt sind, dieses Endglied als ein stark lichtbrechendes Köpfchen erscheint. Man kann diese Beobachtung bei sämmtlichen Bacterienstäbchen machen, gleichviel, ob dieselben jung oder alt sind, ob sie dieser oder jener Art angehören. Ist es blos ein einzelnes Stäbchen, welches die senkrechte Stellung angenommen hat, so sieht dasselbe einer kugligen Vibriospore täuschend ähnlich und man würde es für eine solche halten, wenn es nicht im nächsten Augenblick seine Lage änderte. Doppelstäbchen, deren eines Glied sich senkrecht gestellt hat, geben vollständig den Eindruck einer geschwänzten, sporentragenden Köpfchenbacterie. Diese Erscheinungen beweisen uns aber, dass das Bacterienplasma, wenn es nur hinreichend dicht ist, oder, was auf dasselbe ankommt, wenn es in hinreichend dicker Schichte vorkommt, das Vermögen besitzt, die durchgehenden Lichtstrahlen stark von ihrer Bahn abzulenken. — Wir können also die Sporenbildung als einen Verdichtungsprozess des Plasma, wobei die Imbibitionsflüssigkeit einfach ausgestossen wird, auffassen, und wir brauchen nicht, um uns die starke Lichtbrechung der Sporen zu erklären, weder zu der Annahme, dass der Inhalt derselben ölartig ist, noch auch zu anderen Hypothesen, unsere Zuflucht zu nehmen.

Was die Umhüllung der Sporen anlangt, so sind auch in dieser Hinsicht die Ansichten sehr getheilt. Cohn[2] nimmt an, dass die Sporenhaut

[1] Études sur la bière. p. 282.

[2] l. c. p. 269.

von gallertartiger Beschaffenheit ist. Nach Koch[1] sollen die eiförmigen Sporen von B. Anthracis in eine kuglige, glashelle Masse eingebettet sein, „deren kuglige Form beim Rollen der Sporen nach verschiedenen Richtungen leicht zu erkennen ist.“ Diese letztere Ansicht wird auch von Ewart[2] getheilt. Alle diese Forscher stimmen darin überein, dass die äussere Membran der Spore sich bei der Keimung abhebt und durch Verlängerung zum neuen Stäbchen auswächst. Dagegen unterscheidet Brefeld,[3] welcher zuerst die Keimung der Sporen richtig beobachtet hat, eine äussere Membran (Exosporium), welche nach der Keimung abgestossen wird, und eine innere (Endosporium), die zur Membran des Keimlings wird. Doch scheint Brefeld anzunehmen, dass ausser diesen beiden Membranen noch eine dritte (Episporium?) vorhanden ist, indem er den hellen Lichthof, welcher nach Aussen die Sporen umgiebt, nicht für eine optische Erscheinung, sondern „aller Wahrscheinlichkeit nach“ für substanziell hält, „denn wenn viele Sporen in Haufen zusammenliegen, berühren sie sich nicht unmittelbar, sondern nur mit den hellen Höfen.“

Ich kann dieser letzteren Ansicht Brefeld's nicht beistimmen, bin vielmehr der Ueberzeugung, dass der „helle Hof“ mit der starken Lichtbrechung der Sporen zusammenhängt; denn, sobald die Spore bei der Keimung ihren Lichtglanz verloren hat, ist auch der helle Hof verschwunden. Man könnte zwar annehmen, dass sich in dieser Zeit die Substanz desselben aufgelöst hat, dagegen spricht aber der Umstand, dass, wenn die erblasste Spore, was namentlich bei den grösseren Sporen des Clostridium butyricum und Cl. Polymyxa deutlich zu sehen ist, sich mit ihrer Längsachse in die Sehrichtung des Beobachters stellt, mit der dadurch bewirkten stärkeren Lichtbrechung der Spore auch der äussere Lichthof von Neuem erscheint. — Uebrigens ist die Erscheinung des Lichthofes keineswegs blos an die Bacteriensporen gebunden, denn sie wird auch an anderen stark lichtbrechenden Körpern, wie kleinen Fetttröpfchen, Stärkekörnern etc., beobachtet, und tritt um so schärfer hervor, je stärker die angewendete Vergrösserung ist. Bekanntlich ist auch Naegeli vor Jahren wegen dieses Lichthofes in den Irrthum verfallen, dass die Stärkekörner Bläschen seien, die nach Aussen von einer Hülle umgeben sind.

Da also der Lichthof als nicht in die Constitution der Sporen gehörend zu betrachten ist, so haben wir blos an ihnen eine äussere Hülle oder das

---

[1] Koch. Die Aetiologie der Milzbrandkrankheit. Beiträge z. Biol. d. Pfl. Bd. II. H. 2. p. 289.

[2] Ewart. On the Life History of Bacillus Anthracis. Quaterly Journal of Microscop. Science. 1878. p. 164.

[3] l. c. p. 518 ff.

Exosporium, welches bei der Keimung abgestossen wird, und eine innere Haut oder das Endosporium, welches als Keimschlauch herauswächst, zu unterscheiden.

---

## Schlussbetrachtungen nebst systematischen Bemerkungen.

Vor noch nicht gerade allzulanger Zeit war unter den Naturforschern der Glaube allgemein herrschend, dass die Bacterien durch Urzeugung aus lebloser, organischer Materie entstehen. Wenn nun einerseits die Möglichkeit einer Urzeugung nicht ohne Weiteres bestritten werden darf, und wenn sie auch für die moderne Naturanschauung als ein nothwendiges Postulat erscheint, so haben doch andererseits alle in richtiger Weise und mit exacter Methode in Angriff genommenen Forschungen zweifellos dargethan, dass die Bacterien sich nur da entwickeln können, wo entwickelungsfähige Keime derselben vorhanden sind. Seit der Zeit, als man festgestellt hat, dass die Bacterien sich durch Sporen fortpflanzen und dass es diese Sporen sind, welche längere Zeit der Siedehitze ohne irgend welchen Schaden widerstehen können, wurden nicht nur alle diejenigen Thatsachen, die man zu Gunsten einer spontanen Entstehung der Bacterien aufgeführt hat, widerlegt, sondern auch der directe Nachweis geliefert, dass die Bacterien keine Ausnahme von dem in der belebten Natur herrschenden Gesetze: „omne vivum ex vivo“ bilden.

Wenn also die Streitfrage nach der Herkunft der Bacterien heutzutage als eine abgethane zu betrachten ist, so ist doch die andere Frage, ob die verschiedenen Formen, denen wir bei den Bacterien begegnen, spezifisch und generisch verschiedenen Organismen angehören oder, ob dieselben blos Entwickelungszustände eines und desselben Organismus sind, bis in die gegenwärtige Zeit Gegenstand der Controverse geblieben. Als man noch glaubte, dass die Bacterien sich aus faulenden, thierischen oder pflanzlichen Substanzen spontan entwickeln, da war es natürlich, dass man dieselben nicht gleich nach ihrer Entstehung bestimmte und unwandelbare Wege in ihrer Entwickelung verfolgen liess; vielmehr musste man annehmen, dass dieselben sowohl in ihrer Gestaltung, als auch in ihren sonstigen Eigenschaften im hohen Grade von den äusseren Bedingungen, unter denen sie leben, beeinflusst werden. In dem Maasse aber, wie der Hypothese einer spontanen Entstehung der Bacterien immer mehr und mehr der Boden unter den Füssen schwand, hat auch die Anschauung mehr Anhänger gefunden, dass die verschiedenen

Bacterienformen nicht einfache Variationen eines und desselben Wesens sind, sondern unter einander distincten Arten und Gattungen angehören müssen. Doch war es schwer, die Richtigkeit dieser Anschauung darzulegen. Dies war erst dann möglich, wenn es gelungen war, die einzelnen Bacterien, welche als unter einander verschieden betrachtet wurden, zu isoliren, und für sich allein unter wechselnden Bedingungen in ihrer Entwickelung zu verfolgen.

Der erste Schritt in dieser Richtung wurde von Cohn gethan, als dieser in gekochten Heuaufgüssen eine Reincultur des B. subtilis erlangte und dessen Fortpflanzung durch Sporen nachwies. Brefeld hat auf dem von Cohn angebahnten Wege weiter gebaut, und hat gezeigt, dass die Sporen des B. subtilis zu denselben Stäbchen auskeimen, aus denen sie hervorgegangen sind, und dass die gekeimten Stäbchen nach einer Reihe von Generationen wieder auf den Sporenzustand zurückkommen. Dadurch aber wurde die Beständigkeit der Entwickelung dieser Bacterie und ihre Berechtigung als einer besonderen Art erwiesen.

Die vorliegenden Untersuchungen liefern nicht nur eine Bestätigung der Befunde dieser beiden Forscher; sie gehen noch einen Schritt weiter, indem sie nachweisen, dass auch andere Bacterien, welche bis jetzt muthmasslicher Weise als besondere Arten aufgeführt wurden, eine gleiche Beständigkeit in ihrer Entwickelung zeigen, und dass diese Entwickelung von derjenigen des B. subtilis verschieden ist.

Ich will dabei von denjenigen Bacterien, bei denen es mir nicht gelungen ist, alle Phasen der Entwickelung zu beobachten, vorläufig ganz absehen, und will mich nur auf diejenigen Arten beschränken, deren gesammte Lebensgeschichte lückenlos erschlossen wurde.

Bei B. subtilis haben wir gesehen, dass die Stäbchen desselben ihr Leben lang einfach cylindrisch sind; sie verdicken sich nicht zur Zeit der Sporenbildung, oder, wenn sie dies thun, so ist doch ihre Verdickung so gering, dass sie gänzlich vernachlässigt werden kann. Vor der Sporenbildung wachsen die Stäbchen normal zu langen Scheinfäden aus, die sich bald zu geraden Gallertbündeln, bald zu Gallertfilzknäueln vereinigen. Die Keimung der Sporen erfolgt bei dieser Art in der Weise, dass der Keimschlauch senkrecht zur Längsachse der Spore herauswächst, und die abgestossene Sporenhaut ist an ihren beiden Polen stark verdickt.

Dem entgegen sehen wir bei denjenigen Arten, die ich unter der Gattung Clostridium zusammengefasst habe, dass die Anfangs ebenfalls cylindrischen Stäbchen ihren Querdurchmesser vor der Sporenbildung stark verdicken und dabei je nach der Art der Ver-

dickung verschiedene Gestaltungen annehmen. Wir beobachten weiter bei diesen Arten nie die für die Gattung Bacillus charakteristischen Fadengeflechte; vielmehr stellen ihre Colonien Vereinigungen von isolirten und unregelmässig neben einander gelagerten Stäbchen dar. Auch die Auskeimung erfolgt in einer anderen Weise, da der Keimschlauch in der Richtung der Längeachse der Spore hervordringt, und die Sporenhaut ist in ihrem ganzen Umfange gleichmässig verdickt.

Durch alle diese Merkmale werden aber diese Arten als besondere und selbständige Organismen charakterisirt; sie können deshalb nicht mit anderen Bacterien confundirt werden, sie sind berechtigt als besondere Arten aufgestellt zu werden.

Es fragt sich nun, welchen systematischen Werth wir diesen Merkmalen beilegen sollen, mit anderen Worten, ob dieselben blos einen spezifischen oder vielmehr einen generischen Unterschied abgeben?

Es ist schwer bei dem heutigen Stande der Bacterienkunde eine endgültige Antwort auf diese Frage zu geben. Wir wissen über die Entwickelungsgeschichte anderer Bacterien zu wenig, um daraus ersehen zu können, in wie weit die morphologische Ausbildung der Bacterien sowohl im Bereich des Arten- als auch des Gattungsbegriffs fortgeschritten ist? — Zwei Umstände sind jedoch, wie ich meine, in dieser Hinsicht zu beachten. Erstens, dass die Bacterien die niedersten und einfachsten Organismen sind, die wir überhaupt kennen, weshalb auch die Anzahl der Charaktere, die als Typen zur Unterscheidung der Gattungen verwendet werden können, sehr gering sein muss. Zweitens aber, dass es viele Bacterien gibt, die wenigstens zur Zeit als besondere Arten aufgefasst werden, die sich jedoch durch keine morphologischen, vielmehr nur durch Merkmale rein physiologischer Natur oder durch einfache Grössenverhältnisse von einander unterscheiden.

Es kommen namentlich zwei Gattungen in Betracht, zu welchen die Arten meiner Gattung Clostridium in engerer verwandtschaftlicher Beziehung stehen und mit welchen sie vereinigt werden konnten; es sind dies die Gattungen Bacillus und Bacterium. In der ersten von diesen Gattungen werden von Cohn drei Arten unterschieden: B. subtilis, B. Anthracis und B. Ulna; zu diesen kommen noch die von Koch[1] aufgezählten Bacillusarten, sowie B. Amylobacter van Tieghem's. Ich will von den Koch'schen Arten ganz absehen, da dieselben nur einzelne Entwickelungszustände darstellen, von denen man nicht weiss, woraus sie

[1] Koch. Verfahren zur Untersuchung, zum Conserviren und Photographiren der Bacterien. Beiträge zur Biol. der Pfl. Bd. II. H. 3.

entstanden sind und worin sie sich verwandeln. Dagegen hat van Tieghem[1] den Amylobacter unter der Voraussetzung der Gattung Bacillus eingereiht, dass derselbe sowohl in seiner Grösse, als auch in allen Einzelheiten seiner Entwickelung mit B. subtilis übereinstimmen soll; das einzige unterscheidende Merkmal, welches er für diese beiden Arten gelten lässt, soll darin bestehen, dass Amylobacter in seinem Inhalte amorphe Stärke produzirt, während B. subtilis dies nicht vermag. Dass die Voraussetzung van Tieghem's unbegründet war, beweist uns die im Vorigen geschilderte Entwickelungsgeschichte dieser beiden Arten. — Fassen wir nun die drei übrigbleibenden Arten der Gattung Bacillus in's Auge, so begegnen wir bei ihnen einer vollständigen Uebereinstimmung sowohl in morphologischer, als auch entwickelungsgeschichtlicher Beziehung. B. subtilis unterscheidet sich von B. Anthracis nur dadurch, dass Letzterer das Contagium des Milzbrandes ist, während Ersterem eine pathogene Eigenschaft nicht zukommt; dagegen weicht B. Ulna nur durch seine bedeutende Grösse von diesen beiden Arten ab. Alle drei Arten sind durch die cylindrische Gestalt ihrer Stäbchen, durch den Mangel einer Verdickung und durch das Auswachsen in lange Scheinfäden vor der Fructification charakterisirt; bei allen sind auch die Sporen gleichgestaltet. Die Keimung der Sporen wurde bis jetzt nur bei B. subtilis richtig beobachtet. Sind aber auch die Sporen der anderen Arten von derselben Beschaffenheit, wie die des B. subtilis, und erfolgt auch ihre Auskeimung in derselben Weise, wie bei der letztgenannten Art, so wären natürlich in diesen Verhältnissen auch die Grenzen vorgezeichnet, welche die Gattung Bacillus umfasst; alle übrigen Arten, deren Sporen anders beschaffen sind, müssten dann von dieser Gattung ferngehalten werden, zumal, wenn zu diesem Merkmal noch andere hinzukommen. Ist jedoch eine solche Uebereinstimmung im anatomischen Bau der Sporen bei den einzelnen Arten der Gattung Bacillus nicht vorhanden, so müsste dann auch die Begrenzung dieser Gattung anders ausfallen; dann könnte die Gattung Clostridium entweder mit Bacillus vereinigt, oder als eine Untergattung derselben untergeordnet werden. Bei dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse von den Bacterien schien es mir aber nothwendig zu sein, beide Gattungen auseinanderzuhalten.

Eine vielleicht noch engere Verwandtschaft zeigen die Arten meiner Gattung Clostridium zu Bacterium. Die verdickten Stäbchen des Cl. butyricum, wenn sie einzeln oder zu Ketten verbunden herumschwärmen, ähneln habituell sehr denjenigen von Bacterium Termo und B. Lineola.

---

[1] van Tieghem. Sur le Bacillus Amylobacter. Bulletin de la Société botan. de France. t. 24. 1877. p. 129—130.

Man hat wohl aus diesem Grunde diejenigen Bacterien, die blos in Spindelform oder Kopfform beobachtet wurden, zur Gattung Bacterium geschlagen, und als B. fusiforme, B. pyriforme etc. spezifisch bezeichnet. Auch Cohn[1] ist geneigt die spindelförmigen Spaltpilzformen zu Bacterium zu rechnen. Er sagt nämlich bei Besprechung dieser Gattung: . . „ich vermuthe, dass die Zahl der Arten grösser ist, als bisher bekannt. Auf gekochten Kartoffelstückchen vegetiren z. B. auch Schleimmassen von Stäbchenbacterien von charakteristisch spindelförmiger Gestalt.“ Ebenso bieten die Schleimcolonien bei beiden Gattungen dasselbe Aussehen: sie stellen Vereinigungen von einzelnen oder unregelmässig vertheilten Stäbchen dar. — Doch sind unsere Kenntnisse über die Gattung Bacterium zur Zeit noch dürftiger, als über Bacillus. Nur Ewart[2] hat versucht, eine Entwickelungsgeschichte des B. Termo zu geben; indess ist es fraglich, ob seine Bacterie in Wirklichkeit B. Termo ist; denn seine Figuren zeigen uns nicht die charakteristischen biscuitförmigen Stäbchen des B. Termo, vielmehr einen dünnen Bacillus. Nach Ewart sollen die Stäbchen des B. Termo vor Fructification zu längeren Scheinfäden auswachsen, deren einzelne Glieder dann oblonge, eiförmige Sporen ausbilden. Sollte sich die Beobachtung Ewart's als richtig erweisen, so würde kein Grund vorhanden sein, die Gattungen Bacterium und Bacillus zu trennen, vielmehr müssten die Arten der letzteren Gattung zu Bacterium hinübergezogen werden; dann könnte auch vielleicht die Gattung Clostridium mit Bacterium vereinigt werden.

Ich will die Combinationen, die die künftige Systematisirung der Bacterien betreffen, nicht weiter ausführen, da doch eine natürliche Gruppirung dieser Wesen erst dann möglich sein wird, wenn die gesammte Entwickelungsgeschichte bei möglichst vielen und zwar typischen Spaltpilzformen erkannt sein wird. Dass aber eine Gliederung der Bacterien in natürliche Ordnungen auf Grundlage der Morphologie und Entwickelungsgeschichte kein Phantom ist, glaube ich durch die vorliegenden Blätter bewiesen zu haben.

---

[1] Beitr. zur Biol. der Pfl. Bd. I. H. 2. p. 168.

[2] Ewart. The Life History of Bacterium Termo and Micrococcus. Proceedings of the Royal Society. Vol. XXVII. No. 188. p. 475.

# Ergebnisse.

Die wichtigsten Ergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Die Bacterien weisen in ihrer Entwickelung gewisse morphologische Charaktere auf, die bei den verschiedenen Arten verschieden sind und sich constant vererben. Der Nachweis, dass es verschiedene Arten von Bacterien gibt, wurde wenigstens für Bacillus subtilis und Clostridium butyricum mit aller Sicherheit geliefert.

2. Bacillus subtilis ist kein Ferment der Buttersäuregährung; er kann auch kein anderes Ferment sein, denn er vermag nicht bei Luftausschluss zu leben, vielmehr geht er unter diesen Umständen zu Grunde.

3. Amylobacter ist das Ferment der Buttersäuregährung und mit dem Vibrion butyrique von Pasteur identisch.

4. Die Zooglaeenbildung der Bacterien ist ein Vorgang, welcher sich in morphologischer Beziehung an die Bildung von Gallertfamilien bei den einzelligen Algen anschliesst.

5. Das Bacterienplasma besitzt im verdichteten Zustande die Eigenschaft, die Lichtstrahlen stark zu brechen und diesem Umstande haben die Sporen der Bacterien ihren Lichtglanz zu verdanken.

# Erklärung der Abbildungen.

## Tafel I.

Fig. 1. Die zu Keimungsversuchen benutzte feuchte Kammer; a innere, kreisförmige Fläche, b die ringförmige Rinne, r die seitliche Rinne. Die punktirten Linien bezeichnen die Lage des Deckgläschens.

**Bacillus subtilis** (Fig. 2—4).

Fig. 2. Die aufeinanderfolgenden Stadien der Keimung der Sporen von B. subtilis. In A ist die eine Art von Auskeimung dargestellt, wenn das Stäbchen in kurzer Zeit nach seinem Hervorbrechen aus der Sporenhaut herausschlüpft (zwischen den Stadien d und i ist ein Zeitraum von $^5/_4$ Stunden verflossen); in B zieht sich das Stäbchen erst nach und nach aus der Sporenhaut zurück (zwischen c und h zwei Stunden); in C ist die weitere Entwickelung der gekeimten Stäbchen dargestellt, bis dieselben auseinanderfallen (k) und in den Schwärmerzustand übergehen (von f—k $^5/_4$ Stunden).

Fig. 3. Drei Entwicklungszustände einer und derselben Schleimcolonie von B. subtilis. In a ein Scheinfaden, der eben in kürzere Glieder zerfällt; b $^3/_4$ Stunden später; die einzelnen Fadentheile sind weiter gewachsen; c $1^1/_2$ Stunden später als b.

Fig. 4. a Ein kürzerer sporenbildender Scheinfaden von B. subtilis; im oberen Endglied ist die Spore schon ausgebildet; b Einzelstäbchen mit fertig gebildeten Sporen.

**Bacillus Ulna** (Fig. 5—7).

Fig. 5. Einzelne Glieder sowie Ketten von Stäbchen des B. Ulna.

Fig. 6. a Zwei kürzere Scheinfäden zur Zeit der Sporenbildung; b links ein Bruchstück eines Scheinfadens mit fertigen Sporen, rechts ebenfalls ein Bruchstück eines Bündels von 3 parallel aneinandergereihten Scheinfäden; in beiden sind die Membranen der Zellen schon theilweise zersetzt.

Fig. 7. Zwei Bruchstücke von zersetzten Fäden des B. Ulna; in a haben sich in der ganzen Länge des Fadens stark lichtbrechende Körnchen von verschiedener Grösse ausgeschieden; in b sieht man 3 normal entwickelte Sporen.

**Vibrio Rugula.** (Fig 8—11).

Fig. 8. Jugendliche Stäbchen und längere Fäden von V. Rugula.

Fig. 9. Die verdickten Stäbchen derselben Bacterie.

Fig. 10. Eine kleinere Gruppe von Stäbchen mit kugliger Anschwellung an dem einen Ende.

Fig. 11. Sporenbildende und sporentragende Stäbchen von V. Rugula.

# Tafel II.

**Clostridium butyricum** (Fig. 1—4).

Fig. 1. Einzelne Stäbchen sowie Kettenverbände von solchen und längere Fäden im jugendlichen Zustande.

Fig. 2. Angeschwollene Zustände von Cl. butyricum zum Theil in Sporenbildung, zum Theil mit fertig gebildeten Sporen. a Spindelformen, b verlängerte Spindel — und Ellipsoidformen, c Kopfformen, d vibrionenartig gekrümmte Stäbchen, e zwei Scheinfäden mit einzelnen angeschwollenen Gliedern, f ein Stäbchen mit zwei normal ausgebildeten Sporen.

Fig. 3. Zwei Entwicklungszustände einer und derselben Zooglaea von Cl. butyricum. Zwischen a und b ein Abstand von 14 Stunden.

Fig. 4. Keimung der Sporen von Cl. butyricum. In A sind zwischen den Stadien d—f $^3/_4$ Studen, in B zwischen d—i $1^3/_4$ Stunden, verflossen. Bei C eben gekeimte Stäbchen mit anhängender Sporenhaut im Schwärmerzustand; bei x sieht man die noch nicht aufgelöste Mutterzellmembran der Spore.

**Clostridium Polymyxa.** (Fig. 5—7).

Fig. 5. Entwickelung einer Zooglaea von Cl. Polymyxa. Zwischen a und e ein Zeitraum von 20 Stunden.

Fig. 6. Schlauchartig erweiterte Fäden von Cl. Polymyxa.

Fig. 7. Eigenthümliche nach Art des Micrococcus gestaltete Kettenverbände derselben Bacterie; bei b haben einzelne Glieder die normale, cylindrische und spindelförmige Gestalt beibehalten.

Mit Ausnahme der Fig. 1. (natürliche Grösse) sind sämmtliche übrigen Figuren bei einer Vergrösserung von 1020 Mal (Zeiss Objectiv F. Ocular IV.) gezeichnet.

Fig. 1.

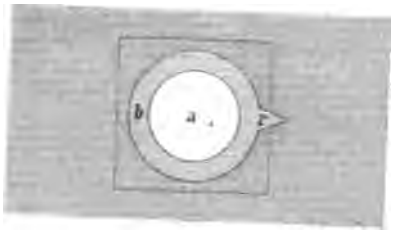



Fig. 2.

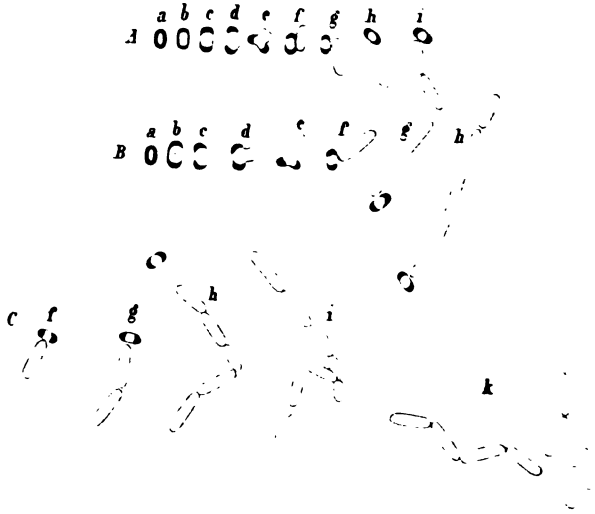



Fig. 3.

Fig. 8.

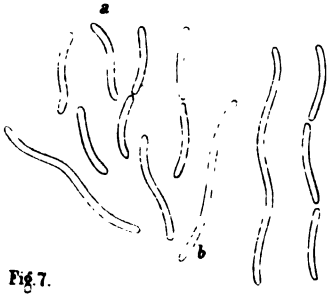



Fig. 5.

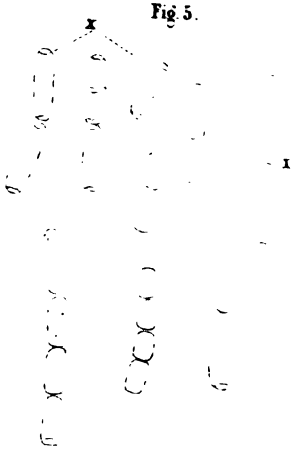



Fig. 6.

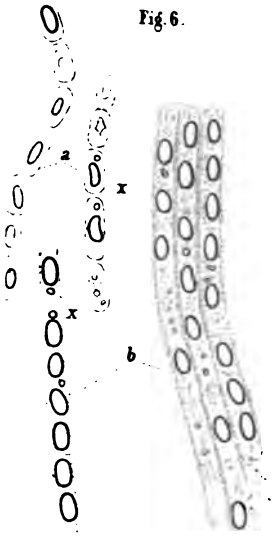



Fig. 7.

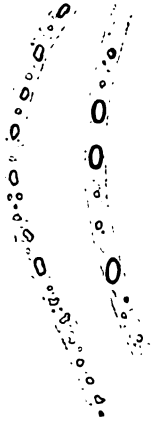


Fig. 4.

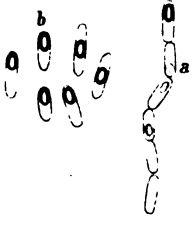



Fig. 11.

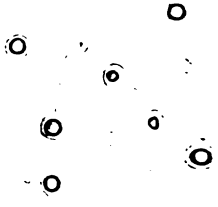


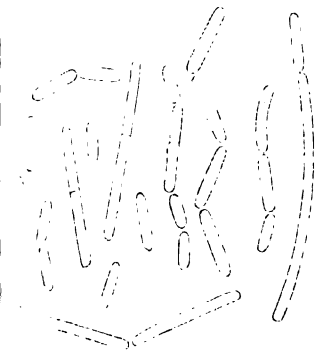
Fig. 9.

Fig. 10.

A. Pradzowski ad nat. delin.

Lith. Anst. v. C. Kirst, Leipzig.

Fig. 1.



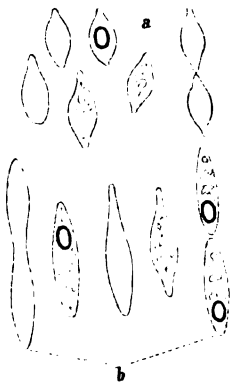



Fig. 2.

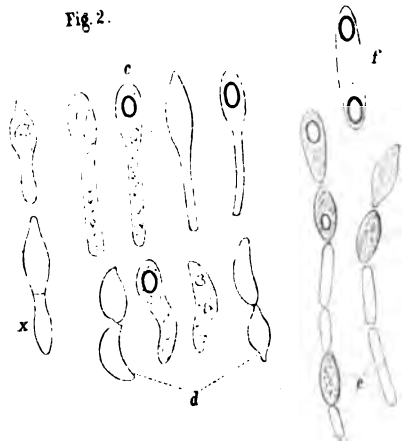



Fig. 4.

Fig. 3.

Fig. 5.

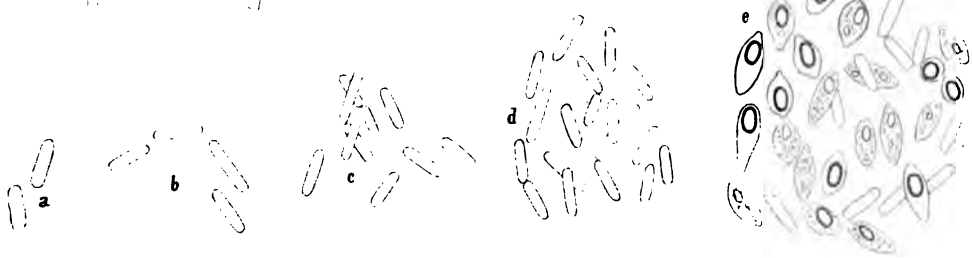



Fig. 6.

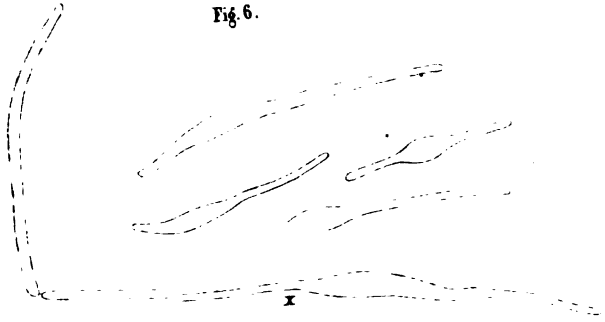
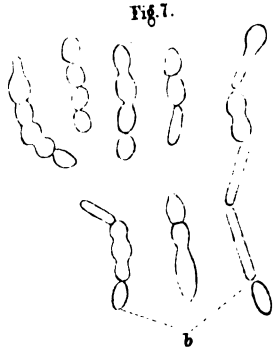



Fig. 7.




Lith. Anst. v. C. Kirst Leipzig

# Vita.

Ich wurde am 25. October des Jahres 1853 zu Siedliska in Galizien geboren und in katholischer Religion getauft. Als meine Eltern im Jahre 1860 nach Przemysl übersiedelten, besuchte ich zuerst die dortige Elementarschule, dann aber vom Jahre 1864 bis zu Ende des Jahres 1871 das dortige Gymnasium. Nach zweijähriger Pause, während welcher ich als Privatlehrer fungirte, bin ich in die höhere landwirthschaftliche Schule in Dublany bei Lemberg eingetreten und habe den dreijährigen Cursus dieser Anstalt im Jahre 1876 mit Auszeichnung absolvirt. Nachdem ich durch Vermittelung der k. k. galiz. landwirthschaftlichen Gesellschaft zu Lemberg ein Stipendium in's Ausland erlangt habe, begab ich mich nach Leipzig, und besuchte während meines dreijährigen Aufenthaltes an der hiesigen Universität die Vorlesungen der Herren Proff. Blomeyer, Roscher, Schenk, Hankel, Knop, Stohman etc. Ausserdem habe ich im botanischen Laboratorium des Herrn Hofrath Prof. Schenk, sowie im physikalischen Laboratorium des Herrn Geheimrath Prof Hankel gearbeitet. Im botanischen Laboratorium, wo ich die vorliegendem Untersuchungen ausgeführt habe, habe ich mich noch mit einer Arbeit über die Embryoentwickelung bei den dikotylen Pflanzen beschäftigt, die zu einem geringeren Theile in Dr. Luerssen's: „Grundzüge der Botanik“ (Leipzig, 1879) sowie in desselben Verfassers „Handbuch der systematischen Botanik“ (Leipzig 1880, Bd. II. Heft 4) aufgenommen wurde.

Druck von G. Reusche in Leipzig.